

Aus dem Hygiene-Institut  
(ehem. Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe)  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

---

**ZUR DIFFERENZIERUNG VON  
STÄBCHENFÖRMIGEN MILCHSÄUREBAKTERIEN  
(GENUS LACTOBACILLUS BEIJERINCK)**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Würde eines Doktors der Medizin  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Johannes Gutenberg-Universität  
Mainz

vorgelegt von  
Hans-Jürgen Lörz  
Zahnarzt  
aus Stuttgart  
1962



Aus dem Hygiene-Institut  
(ehem. Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe)  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

---

**ZUR DIFFERENZIERUNG VON  
STÄBCHENFÖRMIGEN MILCHSÄUREBAKTERIEN  
(GENUS LACTOBACILLUS BEIJERINCK)**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Würde eines Doktors der Medizin  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Johannes Gutenberg-Universität  
Mainz



vorgelegt von  
Hans-Jürgen Lörz  
Zahnarzt  
aus Stuttgart  
1962

Dekan: Prof. Dr. K. Wagner

Referent: Prof. Dr. T. Lammers

Korreferent: Prof. Dr. H. Kliewe

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juli 1963

Meinen Eltern  
in Dankbarkeit  
gewidmet

# INHALTSVERZEICHNIS

# SEITE

|     |                                                                              |    |
|-----|------------------------------------------------------------------------------|----|
| I   | Einleitung                                                                   | 6  |
| II  | Zur Differenzierung der stäbchenförmigen<br>Milchsäurebakterien              | 7  |
|     | 1. Geschichtliche Daten                                                      | 7  |
|     | 2. Kritische Stellungnahme zur Methodik der<br>Laktobazillen-Differenzierung | 14 |
| III | Eigene Untersuchungen mit Laktobazillen                                      |    |
|     | A. Untersuchungsmethodik                                                     | 22 |
|     | 1. Isolierung                                                                | 22 |
|     | 2. Identifizierung                                                           | 24 |
|     | 3. Rein- und Dauerkultur                                                     | 24 |
|     | 4. Differenzierungsverfahren                                                 | 25 |
|     | a) auf Grund der Kohlenhydratvergärbarkeit                                   | 25 |
|     | b) auf Grund anderer biochemischer Reakti-<br>onen                           | 28 |
|     | 01. Die Gasbildung bei der Glucosevergärung                                  | 28 |
|     | 02. Die Hydrolyse von Aesculin                                               | 30 |
|     | 03. Die Voges-Proskauer-Reaktion                                             | 30 |
|     | 04. Die Ammoniakbildung aus Arginin                                          | 31 |
|     | 05. Das Verhalten in Lackmusmilch                                            | 31 |
|     | 06. Wachstumstemperaturansprüche                                             | 31 |
|     | B. Untersuchungsergebnisse                                                   | 32 |
| IV  | Diskussion                                                                   | 48 |
| V   | Zusammenfassung                                                              | 56 |
|     | Literaturverzeichnis                                                         | 58 |
|     | Anhang                                                                       | 65 |

## I. Einleitung

Stäbchenförmige Milchsäurebakterien sind in der Natur außerordentlich stark verbreitet. Sie interessieren nicht nur den Nahrungsmitteltechniker, sondern auch den Arzt, weil sie als Antagonisten der Fäulnisbakterien auf den Schleimhäuten des Menschen nützlich sind, andererseits aber auch mit der Genese der Zahnkaries in Zusammenhang gebracht werden. So wird es verständlich, daß sowohl der Nahrungsmittelbakteriologe als auch die medizinische Mikrobiologie an der weiteren Klärung der Frage interessiert ist, ob es möglich wird, Stämme der Nahrungsmittel von Stämmen der menschlichen und tierischen Schleimhäute differentialdiagnostisch abzugrenzen. Die Klärung dieser Frage besitzt somit einerseits eine Bedeutung für die medizinische Mikrobiologie, andererseits aber auch für die Klinik und für die forensische Medizin. Diese Gründe veranlaßten uns zu prüfen, ob differentialdiagnostische Merkmale zwischen Milchsäurestäbchen aus Lebensmitteln, der menschlichen Mundhöhle, dem Cavum oris der weißen Ratte und der Vagina der Frau offengelegt werden können.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollten fernerhin ein Beitrag zur Beantwortung der Frage sein, ob es unter den Milchsäurestäbchen bestimmte Typen gibt, die aufgrund ihrer biochemischen Eigenschaften als Erreger der Zahnkaries angesprochen werden können. Immer wieder ist in den letzten Jahrzehnten in der Literatur die Frage nach einem Erreger der Zahnkaries aufgeworfen worden. Aktuell ist die Frage nach einem spezifischen Erreger durch Untersuchungsergebnisse - an keimfrei aufgezogenen Tieren gewonnen (61) -, die zeigten, daß eine isolierte Infektion der Mundhöhle mit ganz bestimmten Stämmen Zahnkaries auslöste.

## II Zur Differenzierung der stäbchenförmigen Milchsäurebakterien

### 1. Geschichtliche Daten

Es ist außerordentlich interessant den Weg, den die Wissenschaft in der Erforschung und Differenzierung der Laktobazillen eingeschlagen hat, zurückzuverfolgen. Die ersten Arbeiten, die sich mit Laktobazillen beschäftigten, erschienen um die Jahrhundertwende. Dabei handelte es sich zunächst um Isolierungen aus der Milch und Milchprodukten, dem menschlichen Darm durch TISSIER (82) und dem Frauenmilchstuhl der Säuglinge durch MORO (54,55).

ORLA-JENSEN (56) verdanken wir die erste zusammenfassende Arbeit über die Milchsäurebakterien in einer Monographie von 1919. Darin wurden alle katalasen negativen Stäbchen voneinander getrennt und für das Genus *Lactobacillus* drei Genera definiert: *Thermobacterium*, *Streptobacterium* und *Betabacterium*. Für die Differenzierung wurde die Beurteilung der Modifikation der gebildeten Milchsäure bei der Kohlenhydratvergärung, die Säuremenge, der End - pH - Wert und die Morphologie der Zellen, das Säuerungsvermögen in Milch, sowie das Temperaturoptimum für das Wachstum herangezogen. Es ist bedauerlich, daß diese Arbeit, obwohl sie englisch geschrieben war, nahezu 30 Jahre wenig beachtet wurde. So war es nicht zu vermeiden, daß zwar sehr viele Wege zur Differenzierung der Laktobazillen eingeschlagen wurden, jedoch oft in einer Sackgasse endeten. Dies drückt sich noch heute in der recht bunten Terminologie der stäbchenförmigen Milchsäurebakterien aus. So bediente man sich für die Terminologie der stäbchenförmigen Milchsäurebakterien (in dieser Arbeit kurz Laktobazillen genannt) der mannigfaltigsten Möglichkeiten. Man benannte sie einmal nach ihrer H e r k u n f t , z.B. *Lactobacillus casei* nach seiner Herkunft aus Käse oder *Lactobacillus bulgaricus* nach seiner Herkunft aus bulgarischem Joghurt usw. Aber auch nach ihrer t y p i s c h e n M o r p h o l o g i e wurden

einzelne Stämme benannt, wie z.B. *Lactobacillus bifidus* und *Lactobacillus brevis*. Andere Stämme bekamen ihren Namen aufgrund ihnen anhaftender Eigenschaften, wie z.B. *Lactobacillus acidophilus* und *Lactobacillus thermophilus*. Wieder andere wurden mit dem Namen ihrer Entdecker bezeichnet, z.B. *Lactobacillus buchneri* und *Lactobacillus delbrueckii*. Wieviel Verwirrung durch einseitige Methodik, wie etwa rein morphologische Beschreibung, gestiftet wurde, soll hier nur an dem Beispiel der Mundbakterien, die in Zusammenhang mit der Genese der Zahnkaries gebracht wurden, aufgezeigt werden. Durch UNDERWOOD und MILLES (85) wurden erstmals stäbchenförmige Bakterien in den erweiterten Dentinkanälchen der Zähne nachgewiesen. 1903 entdeckte GOADBY (20) in der menschlichen Mundhöhle säurebildende Mikroorganismen, die er *Bacillus necrodentalis* nannte.

Auch BAUMGARTNER (3) beobachtete in den tiefsten Schichten des kariösen Dentins Stäbchenbakterien. 1911 gab KANTORWICZ (41) unter anderem für die tieferen Schichten der Zahnkaries drei verschiedene Stämme säurebildender Stäbchen an, die er der Gruppe der Acidobakterien nach LEHMANN (48) zuteilt.

Im amerikanischen Schrifttum werden oft KLIGLER und GIES (42) im allgemeinen als die ersten Autoren zitiert, die sich mit den Laktobazillen der Mundhöhle beschäftigt haben sollen. Den beobachteten Stäbchen gaben sie die Bezeichnung "*Bacillus acidophilus* Moro", obwohl sie drei Typen unterscheiden konnten. Der *Bacillus acidophilus* Moro sollte außerdem mit dem Goadby'schen *Bacillus necrodentalis* identisch sein.

Auch HOWE und HATCH (34) glaubten an eine Ähnlichkeit zwischen den Milchsäurebakterien der Mundhöhle und der MORO - TISSIER - Gruppe: MORO (54) = *Bacillus acidophilus*; TISSIER (82) = *Bakterium bifidum*, während Mc INTOSH, JAMES und LAZARNUS - BARLOW (52) die säurebildenden Bazillen aus kariösem Dentin *Bac. acidophilus - odontolyticus* nannten.

1924 konnte HADLEY (21) auf serologischem Wege die Gleichheit des *Bac. necrodentalis* und dem *Bac. acidophilus* des Darmes beweisen. - SCHLIRF (76) faßte mehrere säurebildende Bakterien unter der Bezeichnung Acidobakterien zusammen. Den Goadby schen *Bac. necrodentalis* nennt er *Acidobacterium lactium*.

MORISHITA (53) bedauerte, daß man nicht mehr feststellen könne, ob die von den verschiedenen Autoren isolierten Laktobazillen Varianten einer Spezies oder verschiedene Spezies darstellen würden. Daher benutzte er zur Differenzierung der Laktobazillen des Kariesprozesses von *Lactobacillus acidophilus* die Vergärbarkeit von Kohlenhydraten.

HADLEY, BUNTING und DELVES (22) fanden zwar bei ihren Untersuchungen der Laktobazillen drei Gruppen, die sich hinsichtlich ihrer Kolonieform, Zell-Struktur, der Säurebildung in Glucose-Bouillon, ihrem Verhalten gegenüber Lackmusmilch und in der Fähigkeit, 18 Kohlenhydrate zu vergären, voneinander unterscheiden ließen, bezeichneten jedoch diese Gruppen als Varianten des *Bacillus acidophilus*. Nur im Namen als solchem gab es durch die Arbeit von JAY, CROWLEY und BUNTING (37) noch eine Änderung, in dem man das Bakterium *Lactobacillus acidophilus* nannte.

Die Ansicht, daß es sich bei den stäbchenförmigen Milchsäurebakterien um eine Spezies handelte, setzte sich so durch, daß man nur noch von Laktobazillen sprach. Entscheidend hat dazu auch die Arbeit von HADLEY (23) beigetragen, der Laktobazillen und Karies durch den sogenannten Laktobazillen - Index miteinander in Beziehung setzte.

Interesse verdient vielleicht noch die Arbeit von SULLIVAN, STILL und GOLDWORTHY (80), die über 100 Mundlaktobazillen in eine stark und eine schwach säurebildende Gruppe mit Hilfe der Titrierung der in Glukosebouillon gebildeten Säure und der End-pH-Wertbestimmung einteilten.

Weitere Methoden, die jedoch als Einzelmethoden zur Differenzierung der Laktobazillen nicht ausreichend waren, wurden in dem historischen Überblick von ORLAND (60) und BRIGGS u. BRIGGS (6) beschrieben.

1948 wurden von PEDERSON (4) im "Bergey's manual of Determinative Bacteriology" aus einer Aufstellung von über 100 unzulänglicher, deskriptiver Bezeichnungen, die bis dahin benutzt wurden, 15 Laktobazillenarten aufgrund ihrer verschiedenen physiologischen und morphologischen Eigenschaften definiert. Dabei stützte er sich hauptsächlich auf die Arbeiten von ORLA - JENSEN (56,59), ORLA - JENSEN und Mitarbeitern (57,58), HENNÉBERG (31), FRANK (18) und PEDERSON (62,63,64).

Das Genus *Lactobacillus* Beijerinck wurde zunächst durch die Untersuchung der Kohlenhydratvergärung in homofermentative und heterofermentative Stämme unterteilt, d.h. die heterofermentativen Stämme bilden außer Milchsäure noch  $\text{CO}_2$ , Alkohol und Essigsäure, die homofermentativen nur Milchsäure.

Aufgrund der Optimumtemperatur, der Säurebildung aus Lactose und anderen Kohlenhydraten und der Bestimmung der Modifikation der gebildeten Milchsäure, wurde das Genus in die nach ORLA - JENSEN (59) vorgeschlagenen Subgenera *Thermobacterium*, *Streptobacterium* und *Betabacterium* weiter unterteilt und darin wiederum die verschiedenen Stämme unterschieden.

Die Einordnung in dieses System ist jedoch mit großer Unsicherheit verbunden, was die folgenden Autoren veranlaßt hat, neue Wege zu suchen. Wesentlich neue Impulse für die Klassifizierung der Laktobazillen gaben die Untersuchungen von TITSLER, GEIB und ROGOSA (83) vor allem durch die Einführung einer Methodik, bei der viele Charakteristika für die Differenzierung der Laktobazillen beurteilt wurden: Morphologie, Kolonietyp, der in Milch gebildete Säureprozentatz, Säuredrehung, Wachstums-Temperaturgrenzen, NaCl-Toleranz, Vergärbarkeit von 24 Kohlenhydraten, Verflüssigung von Gelatin, Erzeugung von Katalase, Gas und Ammonium. Außerdem prüften sie die Vitamin- und Nahrungsansprüche der 250 aus der menschlichen Mundhöhle isolierten Laktobazillenstämme (68). Die Ergebnisse von nunmehr 500 Stämmen wurden dann 1953 durch ROGOSA u. Mitarbeiter (69) veröffentlicht.

Inzwischen differenzierten TILDEN und SVEC (81) einzelne Laktobazillen-Stämme aus dem Speichel einer Gruppe von Kindern. Zur Unterscheidung der Arten untersuchten sie

1. die maximale Säurebildung in einer 2%igen Glucosebouillon,
2. die Fähigkeit auf SNYDERs Nährboden Säure oder Säure und Gas zu bilden,
3. die Wirkung auf Milch,
4. die Wirkung auf 10 verschiedene Kohlenhydrate. Einen weiteren Versuch in der Differenzierung des Genus *Lactobacillus* unternahm BRIGGS (5). Dabei trennte sie 452 Stämme mannigfaltigster Herkunft mit Hilfe folgender physiologischer Tests:

1. Gasbildung von Glukose,
2. Gasbildung von Zitrat,
3. Ammoniak-Bildung aus Arginin,
4. Hitzeüberlebungsteste,
5. Wachstums-Temperaturansprüche bei 15<sup>0</sup>, 45<sup>0</sup>, 48<sup>0</sup> C,
6. NaCl-Toleranz (4%).

Bei der Klassifizierung von 473 Laktobazillen-Stämmen aus der menschlichen Mundhöhle erhielt DAVIS (8) fünf beständige, deutlich abgegrenzte und typische Arten durch jene Methoden: Kolonie- und Zell-Morphologie,

Wachstumstemperaturanprüche bei 15 und 45<sup>0</sup> C, die Ammoniakbildung aus Arginin, Galle-, Phenol- und NaCl-Toleranz, Säuremenge aus Glucose und Vergärbarkeit von 11 Kohlenhydraten, Gasbildung in 3%iger Glukosebouillon, Hydrolyse von Hippurat, Hydrolyse von Aesculin und Acethylmethylcarbinol-Bildung aus Glukose.

JENSEN und EDMONDSON (39) benutzten hauptsächlich die Methoden von BRIGGS (5) und TITSLER (83) für ihre Laktobazillenstämmen, die aus dem durch eine Fistel gewonnenen Magensaft eines Schafes und einer Kuh (38) bzw. aus Milch (39) stammten, KUNDRAT (44) dagegen legte bei der Differenzierung der Laktobazillen aus Milch und Milchprodukten wieder mehr Wert auf die Fähigkeit der einzelnen Arten verschiedene Kohlenhydrate unterschiedlich gut zu verwerten. Er entwickelte dafür eine schnelle, einfache Methode, den "Platten-Glasring-Test", die sich von den vorher beschriebenen Methoden dadurch unterschied, daß er den Nährboden nicht oberflächlich, sondern submers beimpfte. (Ein Nachteil des Platten-Glasring-Testes ist der, daß der End-pH-Wert nur auf Grund eines zugegebenen Indikators beurteilt wird.) Als weitere Kriterien zur Definierung der Stämme wurden außerdem noch gewählt: Beurteilung der Kolonie- und Zell-Morphologie, das Verhalten in Lackmusmilch, die Gasbildung aus Glukose, Wachstum bei 15, 45 und 48<sup>0</sup> C, Wachstum bei Anwesenheit von Galle und NaCl-Toleranz. Die dabei erhaltenen Ergebnisse ließen sich gut in die von Orla-Jensen angegebenen drei Genera (1943 als Subgenera vorgeschlagen) *Thermobacterium*, *Streptobacterium* und *Betabacterium* einordnen.

Untersuchungen über die Art der in Sauerteigen anzutreffenden stäbchenförmigen Milchsäurebakterien (Genus *Lactobacillus* Beijerinck) wurden von SPICHER (79) durchgeführt.

Zur Art-Bestimmung bediente er sich

1. der Ermittlung des Vermögens, Glucose unter Bildung von Gas zu vergären,
2. der Untersuchung ihrer Ansprüche hinsichtlich der Temperatur,
3. der Art ihrer Einwirkung auf Lackmusmilch,
4. des Nachweises ihrer Fähigkeit 24 Kohlenhydrate zu vergären,
5. der Einwirkung auf Arginin,
6. des Verlaufes der Hydrolyse von Aesculin und
7. des Ausfalles der Voges-Proskauer-Reaktion (Acetoin-Bildung aus Glukose).

Dabei konnte er die isolierten Laktobazillen in acht Gruppen zusammenfassen und acht definierten Arten des Genus *Lactobacillus* zuordnen.

Für die Differenzierung von 182 aerob wachsender "Laktobazillen"-Stämme aus Lebensmittel- und Faecesproben wurden von LERCHE und REUTER (49) außer der genauen Beobachtung der Kolonie- und Keimmorphologie folgende Proben für wertvoll und brauchbar befunden: Wachstum in Lackmusmilch und Milch mit 10% Briggs-Medium, Gasbildung aus Glukose, Wachstum bei 15<sup>0</sup>, 45<sup>0</sup> und 48<sup>0</sup> C, Vergärung von Kohlenhydraten mit der Kundraatschen Vergärungsreihe in der von den Autoren modifizierte Anwendungsform (Röhrchentest).

Der Versuch von SCHIEBLICH und SEIDEL (75) 110 Laktobazillenstämme aus verschiedenen Quellen außer mit den gebräuchlichen Methoden mit Hilfe des Plattensatzes von HACKENTHAL und BIERKOWSKI zu differenzieren, hat nicht die in ihn gesetzten Erwartungen erfüllt.

In einem Übersichtsreferat legte SEIDEL (77) 1960 die Systematik und Differenzierung der Arten der Gattung *Lactobacillus* dar. Leider konnte bei dieser Arbeit das

anglo-amerikanische Schrifttum nicht in ausreichendem Maße bearbeitet werden.

Faßt man die über die Differenzierung der Laktobazillen vorhandene Literatur zusammen, so sind es zwei Hauptgruppen, die an der Differenzierung der Laktobazillen interessiert sind.

In erster Linie haben sich die N a h r u n g s m i t t e l - b a k t e r i o l o g e n (6,12,13,11,38,39,44,49,56-57, 62-65,79,84,87,88) damit auseinandergesetzt. Daneben hat sich aber auch schon früh die medizinische Mikrobiologie mit den Laktobazillen beschäftigt, einmal im Dienste der K i n d e r - k l i n i k e r (2,54,55,82,16 u.v.a. bis 66) wegen des *Lactobacillus bifidus* (man neigt heute jedoch dazu den *Lactobacillus bifidus* außerhalb des Genus *Lactobacillus* Beijernick zu klassifizieren), dann für die G y n ä k o l o g e n (35, 24,71,67 u.a.) wegen der Döderleinschen Stäbchen und außerdem für den S t o m a t o l o g e n, da vielfach die Vermutung geäußert wurde, daß die Laktobazillen im Biotop *cavum oris* sowohl mit der Zahnkaries beim Menschen (1,7,8,9,10,22,25,33,45, 46,47,68,69,81,83 u.v.a.) als auch mit der experimentellen Zahnkaries beim Versuchstier (weiße Ratte bzw. Hamster) (17, 40,50,73,74) in Zusammenhang gebracht werden müssen.

## 2. Kritische Stellungnahme zur Methodik der Laktobazillen-Differenzierung

Vor der Aufnahme der Untersuchungen mußte erst die Frage nach der Art der Bebrütung und der Bebrütungstemperatur geklärt werden. TODOROFF (84) hält die klassische Plattenmethode nicht für zweckmäßig für die Isolierung der Milch-

säurebakterien. Die Nachteile davon seien 1. die ungünstigen  $O_2$ -Verhältnisse in der Petrischale, 2. die Gefahr der Überwachsung durch aerobe Sporenbildner und Schimmelpilze, 3. Gefahr der Luftinfektion. Punkt 1 wird von DAVIS (10) und HARRISON und OPAL (26) entkräftigt, die bei Verwendung eines geeigneten Nährbodens gleiche Ergebnisse bei aerober wie bei anaerober Bebrütung erhielten und daher die aerobe Bebrütung vorzogen. Punkt 2 und 3 wird dann gegenstandslos sowie man einen selektiven Nährboden benützt, der alle Keime außer den Laktobazillen am Wachstum hindert. Dazu war der in dieser Arbeit verwendete Milch-Peptonagar nach LAMMERS (32) gut geeignet. Als Bebrütungstemperatur hat sich bei DAVIS (10), KUNDRAT (44) u.a.  $37^{\circ}C$  als gut erwiesen. Dafür sprechen auch die von uns früher durchgeführten Untersuchungen(32).

Der Beurteilung der Morphologie wurde in dieser Arbeit ebensowenig Bedeutung zugemessen, wie dies von KULP und RETTGER (43), ENRIGHT, FRIESELL und TRESCHER (15) und SULLIVAN, STILL und GOLDSWORTHY (80) getan wird. Denn Tabelle 3 und 4 zeigen deutlich, daß in ein und derselben Gruppe S- und R-Typen vorkommen können. Auch die von TILDEN und SVEC (81) als Übergangstypen zwischen der typisch glatten und rauhen Art bezeichneten "Spiegelei"-Formen wurden oft isoliert. Aber auch WHEATER (87) maß der Kolonieform keine Bedeutung als Unterscheidungsmerkmal zu, da Unterkulturen oft eine Fülle von Kolonieformen zeigten, die nach SHARPE (78) in einer serologischen Nachuntersuchung mit der Originalkultur identisch waren. Bei einem Stamm zeigten sich sogar 4 (!) verschiedene Kolonieformen bei gleicher serologischer Reaktion. Dagegen

zitiert ROGOSA (69) 8 Autoren, die behaupteten, daß die dominierende Kolonieform einer Spezies immer wieder zurückkehre. Er weist aber auch auf die Änderung des Wachstums von R zu S auf eine veränderte Umgebung zurück, wie z.B. eine ganze Anzahl Laktobazillen bei Anwesenheit von Tween 80 Tendenz zu glattem (S) Wachstum zeigten, die vorher eine andere Kolonieform hatten. Dies wurde früher auch schon von DUBOS u.a. (14) beobachtet. DAVIS (9) hält jedoch die morphologischen Erscheinungen als gutes Kriterium für die Klassifizierung der Laktobazillen. Wäre er konsequent, müßte er seine Plantarum-Stämme zu den heterofermentativen Stämmen zurechnen, da sie dieselbe Kolonieform wie diese aufwiesen. Auch bei LERCHE und REUTER (49) zeigten nur 5 von 10 Laktobazillen-Arten ein konstantes Verhalten hinsichtlich der Morphologie der Kolonieoberfläche.

Die Aesculinhydrolyse läßt sich zur Laktobazillen-Differenzierung gut heranziehen, da durch ihren Ausfall sowohl die homofermentative wie auch die heterofermentative Gruppe sehr gut nochmals untergeteilt werden können. Auf die Hippurathydrolyse konnte in dieser Arbeit verzichtet werden, da sich nach Tabelle 1 ein zu Aesculin weitgehend analoges Verhalten erwarten ließ.

Eine interessante Beziehung besteht auch zwischen der Ammoniak-Bildung aus Arginin und der Gasbildung bei der Vergärung von Glukose, deren Entstehung immer parallel geht, mit Ausnahme von *L. delbrückii*, der nach SPICHER (79) Ammoniak aus Arginin bildete. Ein uns von SPICHER überlassener Stamm hatte diese Eigenschaft jedoch auch nicht, genauso wenig wie die 4 von uns aus dem cavum oris der Ratte isolierten Stämme. Die Bedeutung dieser Beziehung ist unbekannt. BRIGGS (5) hält es für möglich, daß diese Organismen mit diesen beiden Eigenschaften einen speziellen Stoffwechsel besitzen.

Um Gasbildung bei der Vergärung von Glukose festzustellen, gibt es die Methoden von GIBSON und ABD-EL-MALEK (19), TILDEN und SVEC (81) und die von HAYWARD (29) angegebene modifizierte Durham-Röhrchen-Methode (die Oberfläche des Mediums wird durch flüssiges Paraffin von der Atmosphäre abgeschlossen, um ein Entweichen von Gas, hauptsächlich  $\text{CO}_2$ , zu verhüten). DAVIS (10) verglich diese drei Methoden und kam jeweils zu denselben Ergebnissen, so daß er fernerhin nur noch die HAYWARD'sche Methode anwandte. Auch KUNDRAT (44) benützt zur Feststellung von Gas aus Glukose "lange (!)" Durham-Röhrchen. LERCHE und REUTER (49) dagegen verzichteten ganz auf die Verwendung von Durham-Röhrchen, wobei sie das flüssige Briggs-Medium mit verflüssigter Vaseline überschichteten. Wir gingen nach der HAYWARD'schen Methode vor und konnten dabei folgende unseres Wissens noch nicht beschriebene Beobachtung machen. Nachdem die Gasbildung am 4 - 6 Tag ihr Maximum erreicht hatte, nahm anschließend der Gasgehalt der zum Teil ganz gefüllten Durham-Röhrchen bis zum 10. Tag um manchmal mehr als die Hälfte ab. Ob trotz des flüssigen Paraffins ein Austausch mit der Atmosphäre möglich war, oder ob die Laktobazillen in ihrem Stoffwechsel plötzlich wieder  $\text{CO}_2$  brauchten, können wir nicht sagen. Denkbar wäre aber auch, daß durch Absterben von Laktobazillen Puffersubstanzen gebildet wurden, die die Milchsäure gebunden und somit eine größere physikalische Löslichkeit der Kohlensäure ermöglicht haben.

Die Durchführung der Voges-Proskauer-Reaktion (Acetoinbildung aus Glukose) gibt keine reiche Ausbeute. Nach SPICHER (79) ist sie nur bei *L. delbrückii* positiv. Leider zeigte der uns von ihm überlassene Stamm diese Eigenschaft nicht mehr, und auch unsere 4 Stämme gaben diese Reaktion nicht. Nach DAVIS (10) geben *L. casei* und

*L. plantarum* gewöhnlich eine positive Reaktion, bei unseren Stämmen wurde sie meist nur bei *L. plantarum* gefunden.

Die Prüfung der Galleverträglichkeit versprach keinen großen Nutzen in der Differenzierung zu bringen. Im Einzelfall kann man sie jedoch zur Trennung von *L. acidophilus* und *L. bulgaricus* in 2%iger Konzentration heranziehen (s. Tabelle 1 und WHEATER (87)). Bei der Trennung von *L. casei* und *L. plantarum* kann sie leicht versagen, denn nach DAVIS (10) toleriert *L. casei* meist sogar 10%ige Galle. Sonst genügt für diesen Fall Galle in nur 4%iger Konzentration (s. Tabelle 1).

Die Benutzung von Phenol bringt auch in nur 0,4%iger Konzentration Anhaltspunkte für die Trennung von *L. acidophilus*, *lactis* und *bulgaricus*.

Über die NaCl-Toleranz lagen uns zu wenig Literaturangaben vor und diese sagten auch so wenig aus, daß auf deren Untersuchung verzichtet wurde. Auch LERCHE und REUTER (49) wandten die NaCl- und Galletoleranz, sowie die von BRIGGS (5) propagierten Hitzeresistenzteste (60<sup>0</sup> 90 Min., 65<sup>0</sup> 30 Min.) wegen dem untypischen Ausfall der Reaktionen nicht an.

Die Beurteilung des Verhaltens der Laktobazillen in Lackmilch bietet sich, wie Tabelle 1 zeigt, als gutes Diagnostikum zwischen den einzelnen Spezies an. Es sollte daher ihre Prüfung in keiner Arbeit fehlen.

Die Bestimmung der optischen Modifikation der gebildeten Milchsäure gibt ebenfalls wertvolle Hinweise auf die einzelnen Spezies, aber selbst ORLA-JENSEN (59) hält diese Methode für zu zeitraubend, und eine Differenzierung könne auch durch andere Charakteristika erreicht werden. Außer von ORLA-JENSEN (56-59) und ROGOSA u.a. (63,69) liegen auch keine anderen Angaben vor.

Um Auskunft über das Ausmaß der Säurebildung zu erhalten, genügt nach TODOROFF (84) nicht die Zugabe von Indikatoren zu einem Nährboden, sondern nur die Titration. ORLA-JENSEN (59) hält es für notwendig, außer der Titration auch noch den pH-Wert zu bestimmen, da die gebildete Säuremenge von der Pufferwirkung des Nährbodens abhängt. Aus demselben Grund sei es jedoch unzweckmäßig, den pH-Wert allein zu bestimmen. Dem ist einzuwenden, daß der pH-Wert allein sehr wohl Aufschlüsse über das Ausmaß der Säurebildung geben kann, wenn diese Messung jeweils im Nährsubstrat gleicher Zusammensetzung und unter gleichen Bedingungen vorgenommen wird. Auf empirischen Wege läßt sich dann eine Eichkurve über den Zusammenhang von pH-Wert und Säuremenge aufstellen, wie dies auch ROGOSA u.a. (69) getan haben.

Die Wachstumstemperaturansprüche wurden gerne zur Laktobazillen-Differenzierung herangezogen, da sie sich recht gut dazu eignen und einfach durchzuführen sind (s. Tabelle 1). Die Bestimmung der Optimumtemperatur ist nach BRIGGS (5) ein vages Charakteristikum und von zu vielen Faktoren abhängig.

Ein wichtiges differentialdiagnostisches Merkmal ist das Verhalten der Laktobazillen gegenüber den verschiedenen Kohlenhydraten. Darin stimmen ORLA-JENSEN (56,59), HARRISON und HANSEN (27,28), TITTLER, GEIB und ROGOSA (83), TODOROFF (84) u.a. überein. Unzuverlässig fand jedoch diese Methode BRIGGS (5), da sie oft keine konstanten und reproduzierbaren Ergebnisse liefere, nicht nur in der Hand verschiedener Autoren, sondern auch bei ein und demselben Forscher bei verschiedenen Gelegenheiten (WEAVER (86)). Statt dessen differenzierte sie ihre 452 Stämme manigfaltigster Herkunft mit Hilfe von 6 physiologischen Untersuchungen. Es ist zweifellos ein Verdienst von BRIGGS den Genus *Lactobacillus* als Ganzes bearbeitet zu haben,

aber ihre Ergebnisse sind leider widersprüchlich und nicht eindeutig. Ihre *Acidophilus*-Stämme erschienen nach ihrer Klassifizierung in Gruppen I-III, ein Ergebnis, daß nach ihrer eigenen Aussage zur Klärung weitere Untersuchungsmethoden notwendig machte. WHEATER (87) fand dann bei der Nachuntersuchung, daß in Gruppe I und II sowohl Stämme von *L. bulgaricus* und *L. acidophilus* zu finden waren. Die Gruppe III bestand aus Zwischentypen und *L. bulgaricus*. Übrigens stimmte der von WHEATER (87) durch Kohlenhydratvergärbarkeit definierte *L. bulgaricus* mit dem auf serologischem Wege bestimmten *L. bulgaricus* von SHARPE (78) gut überein. WHEATER (87,88) konnte an Hand ihrer Ergebnisse den Wert der Kohlenhydratvergärbarkeit bei der Laktobazillen-Differenzierung nur bestätigen. Über die Zahl und Art der bei der Laktobazillen-Differenzierung zu wählenden Kohlenhydrate ist in der Literatur kein brauchbarer Hinweis zu finden. Daher wurde in dieser Arbeit in Tabelle 1 sämtliche verwendete Kohlenhydrate zusammengestellt und nach ihrer Brauchbarkeit zur Differenzierung geordnet. Ausgeschieden wurden sämtliche Kohlenhydrate mit nur positiven und wechselnden Reaktionen und alle Kohlenhydrate mit nur negativen bzw. wechselnden Reaktionen. Von 28 Kohlenhydraten könnten also auf 15 gleich verzichtet werden, außerdem noch auf zwei weitere, da deren Verhalten mit einem anderen Kohlenhydrat identisch ist (Arabinose-Xylose und Raffinose-Melibiose). Dies stimmte auch mit unseren Ergebnissen überein. Dagegen verhielt sich Mannose in der vorliegenden Arbeit so, daß die heterofermentativen Stämme diese nie verwerteten, was im Gegensatz zu den Angaben in der Literatur steht, wo zumindest *L. pastorianus* und *L. fermenti* immer und *L. brevis* und *L. buchneri* manchmal Mannose vergären können. Wir schlagen daher vor, dies bei späteren Untersuchungen nochmals zu überprüfen. Somit wären zu verwenden D-Maltose, D-Saccharose, D-Lactose, Dextrin, D-Cellobiose, D-Trehalose,  $\alpha$ -Methylglucosid, D-Mannit, Salicin, L-Arabinose oder D-Xylose und D-Raffinose bzw. D-Melibiose.

Von einer serologischen Untersuchung der Stämme haben wir Abstand genommen, da die physiologischen Untersuchungsmethoden eine genügend genaue Differenzierung der Laktobazillen erlauben, eine Meinung, die TODOROFF (84) mit uns teilt. Eine umfassende serologische Klassifizierung liegt uns von SHARPE (78) vor, die recht interessante Ergebnisse lieferte. Leider versuchte sie eine Übereinstimmung ihrer Ergebnisse mit denen von BRIGGS (5) (Trennung der Stämme durch sechs physiologische Tests) herzustellen, was ihr aber nicht überzeugend gelungen ist. Vor allem in ihrer Tabelle 5 kommt dies zum Ausdruck. Es seien hier nur zwei Beispiele herausgegriffen. Stämme, die SHARPE s serologischen Gruppe *L. bulgaricus* angehörten, fanden sich bei BRIGGS (5) in den Gruppen I, II, III, V, und VI wieder. Oder in der Gruppe VI von BRIGGS waren Stämme der serologischen Gruppen von SHARPE: *L. bulgaricus*, *L. casei-helveticus*, *L. casei* und *L. plantarum* vertreten. Dies ist übrigens ein weiterer Beweis für die Unzulänglichkeit der Methodik von BRIGGS (5). Aber auch die Beurteilung der serologischen Untersuchungsergebnisse darf nur besonders vorsichtig gehandhabt werden. Denn eine serologische Verwandtschaft von *L. lactis* und *L. brevis* allein, kann noch nicht zu einer Aufgabe der Trennung der Laktobazillen in homofermentative und heterofermentative Spezies führen, wie dies SHARPE (78) forderte. Übrigens ist der Prozentsatz der ungruppierbaren Stämme bei einer serologischen Differenzierung unverhältnismäßig hoch. Er liegt nach Angaben von SHARPE (78) bei 30%.

Um diese Ergebnisse zu verbessern, legte in einer neuen Arbeit ROGOSA und SHARPE (70) eine Kombination der kulturell-biochemischen und serologischen Methodik vor.

### III Eigene Untersuchungen mit Laktobazillen

Um Unterschiede in den Stoffwechselleistungen unterschiedlicher Milchsäurestäbchen feststellen zu können, isolierten wir aus dem cavum oris der mit einer kariogenen Kost ernährten weißen Ratte, der Mundhöhle von kariesaktiven Menschen, der Vagina geschlechtsreifer Frauen, und aus Lebensmitteln (Joghurt, Sauerkraut, Sauerteig und Käse) 145 Laktobazillen-Stämme. Im einzelnen wendeten wir unter Beachtung der oben erwähnten Literaturangaben folgendes Vorgehen an:

#### A. Untersuchungsmethodik

##### 1. Isolierung

Die Laktobazillen, die aus dem cavum oris weißer Ratten stammten, wurden auf folgende Weise isoliert. Mit einem in 2%iger Traubenzuckerlösung angefeuchteten sterilen Stieltupfer wurde 6mal über die Okklusionsflächen der linken unteren Molaren der Ratte gestrichen. Danach wurden die Tupfer in 10 ml einer 2%igen Traubenzuckerlösung ausgeknetet und mit physiologischer NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 10 und 1 : 100 verdünnt. Von der letzten Verdünnung wurde mit 0,1 ml die Oberfläche einer selektiven Laktobazillenagarplatte (Pepton-Milch-Agar nach LAMMERS (32) ) beimpft.

Zusammensetzung des selektiven Laktobazillenagars:

|                                                |         |
|------------------------------------------------|---------|
| Milch                                          | 1000 ml |
| Aqua dest.                                     | 500 ml  |
| Milchzucker                                    | 40 g    |
| Traubenzucker                                  | 40 g    |
| Pepton, Witte                                  | 15 g    |
| 90%ige Milchsäure (zur Ausfällung des Caseins) | 0,5 ml  |
| aufkochen und durch Faltenfilter filtrieren.   |         |

Zum Filtrat werden gegeben:

|                         |      |
|-------------------------|------|
| Tween 80, 10%ige Lösung | 1%   |
| Na-acid                 | 0,1% |
| Agar-Agar               | 2%   |

Das ganze wird gut gemischt und dann fraktioniert im Dampftopf sterilisiert. Danach stellt man auf pH 5,0 ein.

Zu 100,0 ml flüssig gemachten Agars gibt man folgende Farbstoffe:

|                           |        |
|---------------------------|--------|
| Lackmuslösung, Merck      | 3,0 ml |
| Kongorot, 1%ig, wässrig   | 5 gtt. |
| Methylorange, 1%ig, alk.  | "      |
| Löfflers Metylenblau      | "      |
| End - pH - Wert 6,2 - 6,4 |        |

Nach 96-stündiger Bebrütung bei 37<sup>0</sup> C wurde von den gewachsenen, einzel stehenden Kolonien (unter gleichzeitiger Beschreibung der Kolonie-Form) Unterkulturen hergestellt und diese später a. durch ihr einheitliches morphologisches Wachstum und b. durch die mikroskopische Betrachtung der Zellen auf ihre Reinheit geprüft. War diese nicht gegeben, so wurde durch fraktionierte Ausstreichen auf der Laktobazillenagarplatte weiter isoliert.

Bei der Isolierung der Laktobazillen aus der menschlichen Mundhöhle wurde so verfahren: Nicht durch Paraffin - Kauen stimulierter Speichel, sondern Ruhespeichel wurde in einem sterilen Gefäß gesammelt und sofort in Verhältnis 1 : 50 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt. Von dieser Verdünnung wurde mit dem Drigalski-Spatel 0,1 ml auf der Oberfläche einer selektiven Laktobazillenagarplatte gleichmäßig verteilt. Nach dem Wachstum von einzel stehenden Kolonien wurden diese ebenfalls als Unterkulturen weiter gezüchtet und mikroskopisch auf ihre Reinheit geprüft.

Die Laktobazillenkulturen aus Käse, Joghurt und Sauerkraut wurden durch fraktioniertes Ausstreichen mit der Platinöse auf den selektiven Laktobazillenagar gewonnen. Die Döderleinschen Stäbchen wurden ähnlich denen, die aus dem cavum oris der Ratte stammten, behandelt. Erst Abstrich, dann Verdünnung und Beimpfen einer Platte.

Um aus Sauerteig die Laktobazillen isolieren zu können, wurde ein Stück Teig in ein Reagenzglas, das mit 10 ml einer auf p H5 angesäuerten 2%iger Traubenzuckerbouillon (mod. "Jay-Bouillon" (36) ) gebracht. Nach 2tägiger Bebrütung bei 37<sup>0</sup> C wurde mehrmals verdünnt und die Oberfläche einer selektiven Laktobazillenagarplatte beimpft.

## 2. Identifizierung

Zur Gattung *L a k t o b a z i l l u s* gehörig wurden nur die Bakterien angesehen und weiter untersucht, deren Zellen in Traubenzuckerbouillon im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop unbeweglich und stäbchenförmig erschienen. Außerdem wurde gefordert, daß sie sich grampositiv verhielten und in einer Traubenzucker-Essigsäurebouillon bei p H5,0 noch gedeihen und den pH-Wert erniedrigen konnten. Weiterhin mußten sie sich im Lochtest durch Alkaliempfindlichkeit gegenüber 10%igem  $\text{NaHCO}_3$  auszeichnen, sowie durch fehlende Katalasewirkung.

## 3. Rein- und Dauerkultur

Für die Rein- und Dauerkulturen wurde die von DAVIS (12) modifizierte Lackmusmilch von HEIM (30) verwendet. Frische, möglichst keimarme Vollmilch wurde kurz aufgekocht und nach dem Abkühlen durch ein feines Sieb filtriert. Dann

wurde 5% Lackmuslösung nach Kubel-Tiemann und 3%  $\text{CaCO}_3$  zugesetzt, gut durchgemischt, in Reagenzgläser à 10 ml abgefüllt und an drei aufeinanderfolgenden Tagen (fraktioniert) im Dampftopf je 1/2 Stunde sterilisiert.

Die fertige Lackmusmilch wurde mit dem Material einer Platinöse einer Reinkultur beimpft und bei  $37^{\circ}\text{C}$  24 - 48 Stunden bebrütet. Bei beginnender Gerinnung wurden die Röhrchen aus dem Brutschrank genommen, um eine zu starke Säuerung und eine damit abnehmende Pufferung des Nährbodens zu vermeiden. Aufbewahrt wurden die Kulturen im Kühlschrank bei  $4^{\circ}\text{C}$  und nach 8 - 12 Wochen in frische Lackmusmilch überimpft. Die Züchtung auf dem selektiven Laktobazillenagar mit Oberflächenbeimpfung ist auch möglich. Dabei muß aber darauf geachtet werden, daß die Kulturen spätestens nach drei Wochen wieder auf eine neue Platte überimpft werden.

#### 4. Differenzierungsverfahren

##### a) Auf Grund der Kohlenhydratvergärbarkeit

Zunächst wurden die für die einzelnen Stämme charakteristischen Symbole der Kohlenhydratvergärbarkeit in Tabelle 1 zusammengestellt. Dabei konnten die Arbeiten von ORLA-JENSEN (56,59), PEDERSON (4), ROGOSA et al. (69), TILDEN und SVEC (81), DAVIS (10), JENSEN et al. (39), WINKLE (89), WHEATER (87,88), KUNDRAT (44), SPICHER (79), ROGOSA und SHARPE (71), ROGOSA und FRANKLIN (72) und LERCHE und REUTER (49) herangezogen werden. Von diesen 30 Kohlenhydraten wurden 16 KH ausgewählt (wobei auf Galaktose, Melibiose, Melizitose, Rhamnose und Xylose noch hätte verzichtet werden können),

**Tabelle 1** Zusammenfassung der in der Literatur beschriebenen Charakteristika zur Differenzierung der Laktobazillen

|                   |                            | Aesculin | Acetoin | Arginin | Hippurathydrolyse | Gas aus Glucose | 2% ige Galleverträglichkeit | 3% ige | 4% ige | 10% ige | 0,3% ige Phenolverträgl. | 0,4% ige | 2% ige NaCl-Verträglichkeit | 4% ige | 8% ige | Säuerung der Lackmusalmlch | Gerinnung d. Lackmusalmlch | Drehung der Milchsäure |
|-------------------|----------------------------|----------|---------|---------|-------------------|-----------------|-----------------------------|--------|--------|---------|--------------------------|----------|-----------------------------|--------|--------|----------------------------|----------------------------|------------------------|
|                   | Lactobacillus caucasicus   |          |         |         |                   |                 |                             |        |        |         |                          |          |                             |        |        | +                          | +                          | 1                      |
|                   | Lactobacillus bifidus      |          |         |         |                   | !               |                             |        |        |         |                          |          |                             |        |        | -                          | -                          | 1                      |
| Thermobacterium   | Lactobacillus lactis       | -        | -       |         | -                 | -               | +                           | -      | -      | -       | +                        | -        |                             | -      |        | +                          | +                          | 1                      |
|                   | Lactobacillus helveticus   | +        |         |         |                   | -               | +                           | -      | -      | -       |                          |          |                             |        |        | +                          | +                          | 1                      |
|                   | Lactobacillus acidophilus  | +        | -       | -       | -                 | -               | +                           | -      | -      | !       | +                        | +        |                             | !      | -      | +                          | +                          | 1                      |
|                   | Lactobacillus bulgaricus   | -        | -       |         | -                 | -               | -                           | -      | -      | -       | +                        | -        | -                           | -      | -      | +                          | +                          | 1                      |
|                   | Lactobacillus thermophilus |          |         |         |                   |                 |                             |        |        |         |                          |          |                             |        |        | +                          |                            | d                      |
|                   | Lactobacillus delbrückii   | -        | +       | +       | -                 | -               | +                           | -      | -      |         |                          |          |                             |        |        | -                          | -                          | 1                      |
| Strepto-bacterium | Lactobacillus casei        | ! (+)    | -       | +       | -                 |                 | +                           | +      | -      | !       | +                        | !        | +                           | +      |        | +                          | +                          | d                      |
|                   | Lactobacillus plantarum    | ! (+)    | -       | +       | -                 |                 | +                           | +      | +      | +       |                          | +        | +                           | +      | +      | +                          | !                          | 1                      |
|                   | Lactobacillus leichmannii  | +        | -       | -       |                   | -               | +                           | -      | -      |         |                          |          |                             |        |        | -                          | -                          | 1                      |
| Bifidobacterium   | Lactobacillus brevis       | !        | -       | !       | +                 | +               | +                           | +      | (+)    | -       |                          | +        | +                           | +      | -      | +                          | -                          | 1                      |
|                   | Lactobacillus pastorianus  | +        | -       | +       |                   | +               |                             |        |        |         |                          |          |                             |        |        | !                          | !                          |                        |
|                   | Lactobacillus buchneri     | -        | -       | +       | !                 | +               | !                           | +      | -      |         |                          |          | +                           | -      |        | +                          | -                          | 1                      |
|                   | Lactobacillus fermenti     | -        | -       | +       | -                 | +               | +                           | -      | -      | +       | +                        | +        | +                           | !      | -      | +                          | -                          | 1                      |

Zeichenerklärung :

+

+

(+): sooft positiv wie negativ

-

-

s

| Wachstum bei 15° C<br>Wachstum bei 45° C<br>Kolonieform | Glucose<br>Fructose<br>Leävulose<br>Galactose<br>Mannose | Maltose<br>Saccharose<br>Lactose<br>Dextrin<br>Cellulose<br>Trehalose<br>α - Methylglucosid<br>Mannit<br>Salicin<br>Arabinose<br>Xylose<br>Raffinose<br>Melibiose | Melissitose<br>Rhamnose<br>Dulcitol<br>Stärke<br>Glycerin<br>Sorbit<br>Sorbitose<br>Inositol<br>Inulin<br>Amygdalin |                 |
|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
|                                                         | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | -                                                                                                                   | L. caucasicus   |
|                                                         | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. bifidus      |
| - +S/R                                                  | +                                                        | (+)                                                                                                                                                               | -                                                                                                                   | L. lactis       |
| - - R                                                   | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. helveticus   |
| - + RI                                                  | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | -                                                                                                                   | L. acidophilus  |
| - + R                                                   | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | -                                                                                                                   | L. bulgaricus   |
| - + R                                                   | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. thermophilus |
| - + R                                                   | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. delbrückii   |
| + (+) S                                                 | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. casei        |
| + + S                                                   | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. plantarum    |
| + (+) R                                                 | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. leichmannii  |
| + +S/RI                                                 | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. brevis       |
| + + S                                                   | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. pastorianus  |
| + -S/RI                                                 | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. buchneri     |
| - + S                                                   | +                                                        | +                                                                                                                                                                 | +                                                                                                                   | L. fermenti     |

da sie bei der Aufschlüsselung die charakteristischsten Bilder ergaben.

Als Grundnährboden für die Prüfung der Kohlenhydratver-  
gärbarkeit wurde die von DAVIS (10) angegebene Nährbouil-  
lon verwendet, wobei der Kohlenhydratgehalt, wie in der  
Arbeit von SPICHER (79), auf 2% reduziert wurde. Die  
Bouillon setzte sich zusammen aus:

|                           |          |
|---------------------------|----------|
| Pepton                    | 1,0 g    |
| Hefeextrakt               | 0,5 g    |
| Kohlenhydrat              | 2,0 g    |
| Tween 80                  | 0,1 g    |
| Salzlösung A <sup>+</sup> | 0,5 ml   |
| Salzlösung B <sup>+</sup> | 0,5 ml   |
| Aqua dest.                | 100,0 ml |

Einstellung ph. 6,8 (bei DAVIS 7,2) nach dem ersten  
Sterilisieren.

Zur groben Informierung über den Grad der Säurebildung  
wurde der Nährbouillon 0,2% einer 1,5%igen alkoholischen  
Bromkresolpurpurlösung zugesetzt.

Sterilisiert wurde das Nährmedium im Dampftopf an drei  
aufeinanderfolgenden Tagen für 20 Minuten. Mit Hilfe  
einer in Äthylenoxyd ( $60^{\circ}\text{C}$ , 1 - 2 atü, 60 Min.) steri-  
lisierten Cornwallspritze wurde die Bouillon in zylin-  
drischen Wassermann-Röhrchen (1,0 x 8,0 cm) unter steri-  
len Kautelen abgefüllt und nochmals im Dampftopf über-  
sterilisiert.

---

Salzlösung A: 10,0 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 10,0 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  
100,0 ml Aqua dest.

Salzlösung B: 11,5 g  $\text{MgSO}_4 - 7\text{H}_2\text{O}$ , 2,4 g  
 $\text{MnSO}_4 - 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,68 g  $\text{FeSO}_4 - 7\text{H}_2\text{O}$ ,  
100 ml Aqua dest.

Die Kohlenhydrate d-Cellobiose, Dextrin, d-Lactose, d-Mannit, d-Melibiose, d-Melizitose, d-Raffinose, d-Saccharose, Salicin und d-Trehalose wurden der Bouillon unmittelbar zugesetzt, während l-Arabinose, d-Galactose, d-Maltose, d-Mannose und d-Xylose erst als 10%ige Lösung steril filtriert der abgefüllten, hitzesterilisierten und konzentrierter angesetzten Nährbouillon zugegeben wurde.

Beimpft wurden die Untersuchungsreihen mit 0,1 ml 24 Stunden alter Kulturen der oben beschriebenen Nährbouillon, der als Kohlenhydrat Glucose zugesetzt war. Die Röhrchen wurden dann 10 Tage bei 37° C bebrütet. Nach 10 Tagen wurde der End-pH-Wert mit Hilfe eines pH-Elektrometers bestimmt und am Säurewert unbeimpfter Kontrollröhrchen korrigiert. Um auch einen Anhalt für die gebildete Säuremenge zu haben, wurde von der Grund-Nährbouillon eine Eichkurve aufgestellt, die in Abbildung 1 gezeigt wird.

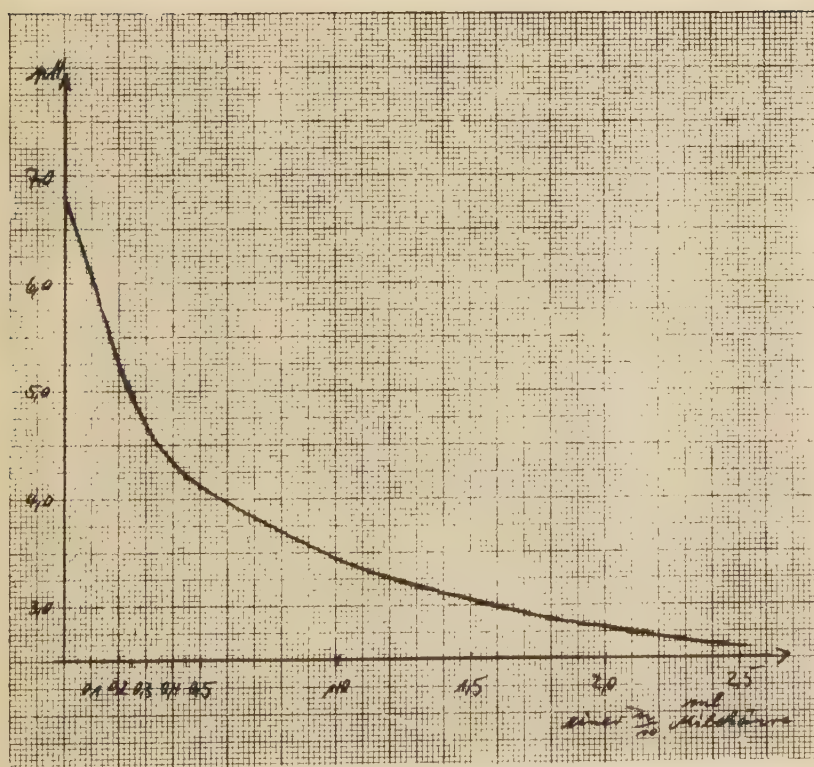
b) Differenzierungsverfahren auf Grund anderer biochemischer Reaktionen

Zur Differenzierung der Laktobazillen wurden außerdem noch folgende in der Literatur beschriebenen biochemischen Untersuchungsmethoden herangezogen:

01. Die Gasbildung in Glucosebouillon zur Trennung der homofermentativen von den heterofermentativen Stämmen.

Die Entstehung von Gas bei Glucose-Vergärung wurde in der oben angegebenen Nährbouillon (s.S. 27) mit Hilfe eines Durham-Röhrchens bestimmt. In die mit 10 ml Glucosebouillon gefüllten Reagenzgläser wurden (nach dem ersten

Abbildung 1 : pH-Abfall unseres Nährmediums  
nach Zugabe steigender Mengen  
von n/10 Milchsäure



Sterilisieren) die Durham-Röhrchen so eingebracht, daß das Röhrchen luftfrei war. Danach wurde fraktioniert sterilisiert. Nach dem Beimpfen wurde das Reagenzglas mit 1,0 ml sterilem Paraffinöl überschichtet und 10 Tage bei 37<sup>0</sup> C bebrütet.

## 02. Die Hydrolyse von Aesculin

Zur Prüfung der Hydrolyse von Aesculin wurde eine Bouillon folgender Zusammensetzung verwendet: 1% Pepton, 0,5% Hefeextrakt, 1% Natriumacetat, 0,5% Aesculin, 0,05% Eisenammoniumcitrat, 0,5% Salzlösung A, 0,5% Salzlösung B, pH 6,8. Nach dem Abfüllen in zylindr. Wassermann-Röhrchen à 3,0 ml wurden die Röhrchen im Autoklav bei einem Druck von 1,5 atü 20 Min. sterilisiert. Bebrütet wurde 14 Tage, und alle 2 Tage wurde abgelesen. Bei Hydrolyse wurde die Bouillon schwarz und verlor die Fluoreszenz.

## 03. Die Voges-Proskauer-Reaktion (Bildung von Acetylmethylcarbinol aus Glucose)

Zur Ausführung der Voges-Proskauer-Reaktion wurde eine Bouillon benutzt, die wie folgt zusammengesetzt war: 0,5 % Pepton; 0,3 % Hefeextrakt; 0,5 % Natriumacetat; 2 % Glucose; 0,1 % Tween 80; 0,5 % Salzlösung A und 0,5 % Salzlösung B. Nach 10tägiger Bebrütung wurden dem mit 3,0 ml gefüllten Wassermannröhrchen einige Körnchen Kreatin, außerdem 0,6 ml einer 5 %  $\alpha$ -Naphthollösung in absolutem Aethanol und 0,2 ml 40%ige Kalilauge hinzugegeben. Bei der Bildung von Acetylmethylcarbinol (Acetoin) aus Glucose trat im Verlauf von 24 Stunden eine mehr oder weniger starke Rosafärbung im oberen Teil des Röhrchens auf.

#### 04. Die Ammoniakbildung aus Arginin

Die Ammoniakbildung aus Arginin wurde in der folgenden Nährbouillon geprüft: 0,5 % Pepton; 0,3 % Hefeextrakt; 0,3 % Glucose; 1,0 % Natriumacetat; 0,3 % l-Argininhydrochlorit; 0,1 % Tween 80; 0,5 % Salzlösung A und 0,5 % Salzlösung B; pH 6,8 (!). Bei Zugabe von Neßlers Reagenz nach 10tägiger Bebrütung traten bei positivem Ausfall sofort braunrot gefärbte Schlieren auf.

#### 05. Das Verhalten in Lackmusmilch (Säuerung, Gerinnung und Reduktion des Lackmusfarbstoffes)

Lackmusmilch (s.S.24) jedoch ohne  $\text{CaCO}_3$ -Zusatz wurde auf Säuerung, Gerinnung und Reduktion des Lackmusindikators untersucht. Gerinnung und Reduktion des Lackmus wurde alle 2 Tage festgehalten, der Grad der Säurebildung nach 10tägiger Bebrütung mit Hilfe des pH-Elektrometers bestimmt.

#### 06. Wachstumstemperaturansprüche bei 15<sup>0</sup> C und 45<sup>0</sup> C

Allgemein wurde auch diese Untersuchungsreihe mit 0,1 ml einer 24 Stunden alten Kultur aus der oben beschriebenen Grundnährbouillon (KH = Glucose) (vergl. S. 27) beimpft. Die Bebrütungstemperatur betrug, wenn nicht anders angegeben, 37<sup>0</sup> C. Salzlösung A und B ist dieselbe wie bei der Zuckerreihe (s.S.27). Die verschiedenen Nährmedien wurden jeweils auf pH 6,8 eingestellt und, wenn nicht extra vermerkt, fraktioniert im Dampftopf an drei aufeinander folgenden Tagen sterilisiert. Die Untersuchung der Wachstumstemperaturansprüche wurde in der Grundnährbouillon (KH = Glucose) (vergl. S. 27) vorgenommen. Die Kul-

turen wurden bei 15<sup>0</sup> C für 14 Tage lang bebrütet und dann der End-pH-Wert gemessen. In diesem Fall wurde auch eine Erniedrigung von nur 0,5 pH als positiver Ausfall gewertet, im Gegensatz zu den anderen Untersuchungsreihen, wo nur eine pH-Wertserniedrigung über 1,0 als positives Ergebnis gewertet wurde. Die Bebrütungsdauer bei 45<sup>0</sup> C betrug 7 Tage.

### B. Untersuchungsergebnisse

Zur Differenzierung gelangten 145 Laktobazillenstämmen, die von verschiedenen Quellen isoliert wurden. 27 Stämme stammten aus der Mundhöhle kariesaktiver Menschen, 78 Stämme aus dem cavum oris der Ratte ; 11 Stämme wurden aus der menschlichen Vagina isoliert, 2 aus Cemembert- und 3 aus Gervais-Käse. Außerdem wurden 4 von Sauerteig isolierte Stämme, 3 Sauermilch-Stämme, 8 Joghurt-Stämme und 1 Sauerkraut-Stamm untersucht. Für unsere Kontrolle testeten wir auch 3 definierte, aus Sauerteig stammende Laktobazillen-Stämme, die uns freundlicherweise von Dr. G. Spicher zur Verfügung gestellt wurden, durch.

Bei der Auswertung der Untersuchungen ergaben sich bei der vorliegenden Arbeit neun Laktobazillengruppen, wovon fünf homofermentativ und vier heterofermentativ waren.

Es konnten aufgrund des untenstehenden Schlüssels die einzelnen Gruppen nach ihren biochemischen Eigenschaften und der Fähigkeit verschiedener Kohlenhydrate zu vergären, differenziert werden.

#### HOMOFERMENTATIVE GRUPPEN

##### Aesculin +

- I. L. casei
- II. L. plantarum
- III. L. leichmannii

##### Aesculin -

- IV. L. delbrueckii
  - V. L. acidophilus
  - L. bulgaricus
  - L. helveticus
  - L. lactis
- 

#### HETEROFERMENTATIVE GRUPPEN

##### Aesculin +

- VI. L. pastorianus
- VII. L. brevis

##### Aesculin -

- VIII. L. buchneri
  - IX. L. fermenti
- 

Nach der groben Trennung der Stämme in homofermentative und heterofermentative Gruppen und nach ihrer Fähigkeit, Aesculin zu spalten, wurde die genaue Differenzierung nach der in der Literatur beschriebenen, wie wir sie in Tabelle I angeführt haben, vorgenommen. Gefordert wurde dabei eine möglichst große Übereinstimmung in den biochemischen Eigenschaften

und dem Ausfall der Kohlenhydratvergärbarkeit.

Selbstverständlich war eine völlige Übereinstimmung in allen der in Tabelle I aufgeführten Eigenschaften nicht bei jedem Stamm gegeben, denn dazu war einmal die Herkunft der Stämme zu verschieden und außerdem muß ja auch mit einer Variation innerhalb jeder Art gerechnet werden.

Nach der Differenzierung der 145 Stämme ergaben sich neun Gruppen, die den aus der Tabelle II ersichtlichen Arten des G E N U S L A C T O B A C I L L U S zugeordnet werden konnten.

Bei den Gruppen I und II, d.h. bei *Lactobacillus casei* und *Lactobacillus plantarum*, fanden sich bei der Ausdifferenzierung einige typische Variationsformen, die in Tabelle III und IV festgehalten wurden. Die Ergebnisse der Tabelle III und IV sind bei der entsprechenden Gruppe besprochen.

Gruppe I: *Lactobacillus casei*

=====

Artdefinition (s. auch Tab.1): Homofermentativ. Hydrolysiert Aesculin. Bildet kein Acetoin aus Glucose und kein Ammoniak aus Arginin. Hippurat wird hydrolysiert. Toleriert Galle in einer Konzentration von 2 und 3%, nicht bei 4 und 10%, Phenol bei 0,3% und meistens auch bei 0,4%, NaCl bei 4%. Lackmusmilch wird gesäuert und koaguliert. Gebildete Milchsäure ist rechtsdrehend. Wächst noch bei 15<sup>0</sup> C, schwach oder nicht bei 45<sup>0</sup> C. Kolonieform: S. Zellform: Kurze oder lange Ketten von kurzen bis langen Stäbchen.

Tabelle 2 Kulturell-biochemische Eigenschaften der von uns auf Milch-Pepton-agar isolierten Laktobazillienstämme

|                       |                       | Aesculin |   | Arginin | Gas aus Glucose |   | Säuerung der Lactumsmilch |   | Gerinnung d. Lactumsmilch |   | Wachstum bei 15 °C |   | Wachstum bei 45 °C |                 |                 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |     |
|-----------------------|-----------------------|----------|---|---------|-----------------|---|---------------------------|---|---------------------------|---|--------------------|---|--------------------|-----------------|-----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|-----|
|                       |                       |          |   |         |                 |   |                           |   |                           |   |                    |   |                    |                 |                 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |     |
| Strepto-<br>bacterium | I Lactobacillus casei | +        | - | -       | -               | - | +                         | + | +                         | + | $\frac{40}{64}$    | + | $\frac{28}{41}$    | $\frac{61}{64}$ | $\frac{62}{64}$ | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | +</ |

Zeichenerklärung : Ein Bruch bedeutet

- Zahl der positiven Ausfälle  
- Zahl der untersuchten Stämme

Übrige Zeichen s. Tab. 1

Säure wird gebildet aus  $\alpha$ -Methylglucosid, Cellobiose, Fructose, Gallactose, Glucose, Lactose, Laevulose, Maltose, Mannit, Mannose, und Trehalose. Die Mehrzahl der Stämme vergärt Dextrin, Dulcit, Melizitose, Saccharose, Sorbit und Sorbose. Von wenigen Stämmen wird vergoren Inosit, Raffinose, Rhamnose und Salicin. Nicht verwertet werden können Arabinose, Glycerin, Inulin, Melibiose, Stärke und Xylose.

Abweichung der auf Milch-Peptonagar gewachsenen Lactobacillen (s.auch Tab.2): Ein unterschiedliches Verhalten zeigten sie beim Wachstum bei 15<sup>0</sup> C, wobei 1/3 der Stämme nicht wuchs, dagegen wuchsen alle Stämme bei 45<sup>0</sup> C. Mannit wurde von 2/3 der Stämme nicht vergoren, dagegen Melibiose von allen und Raffinose von fast allen Stämmen.

Wie aus Tabelle III hervorgeht, lassen sich von den 64 Stämmen der Gruppe Lactobacillus casei noch 6 Untergruppen unterscheiden, und zwar variierten die Stämme hinsichtlich ihrer Reaktion bei der Acetoinbildung (1 Stamm), der Ammoniakbildung aus Arginin (2 Stämme), dem Wachstum bei 15<sup>0</sup> C (20 Stämme in Untergruppe B und D), dem Koloniebild (nur 25 Stämme immer eindeutig S-Form), der Fermentation folgender Kohlenhydrate: Arabinose (4 St.), Melizitose (Untergruppe C), Raffinose (2 St.), Rhamnose (26 St.), Trehalose (Untergruppe C und D) und Xylose (14 St.)

**Tabelle 3** Variationsformen von *Lactobacillus casei* unter unserem Untersuchungsmaterial

| Untergruppen                 | A  | B   | C    | D   | E   | F  |
|------------------------------|----|-----|------|-----|-----|----|
| Zahl der Stämme              | 23 | 22  | 9    | 5   | 2   | 3  |
| Aesculin                     | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Acetoin                      | -  | -   | -    | -   | (+) | -  |
| Arginin                      | -  | -   | -    | -   | +   | -  |
| Gas aus Glucose              | -  | -   | -    | -   | -   | -  |
| Säuerung<br>der Lackmusmilch | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Gerinnung                    | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Wachstum bei 15°C            | +  | +s  | +s   | +s  | +   | +s |
| Wachstum bei 45°C            | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Koloniebild                  | S  | S-R | R(S) | R-S | S   | R  |
| Arabinose                    | -  | -   | (+)  | -   | -   | -  |
| Cellobiose                   | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Dextrin                      | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Galactose                    | +  | +   | +    | +   | +   | -  |
| Lactose                      | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Maltose                      | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Mannit                       | +  | -   | -    | -   | +   | -  |
| Mannose                      | +  | +   | +    | -   | +   | +  |
| Melibiose                    | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Melixitose                   | +  | (+) | -    | +   | +   | +  |
| Raffinose                    | +  | +   | +    | ±   | -   | +  |
| Rhamnose                     | +  | -   | -    | -   | -   | +  |
| Saccharose                   | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Salicin                      | +  | +   | +    | +   | +   | +  |
| Trehalose                    | +  | +   | -    | ±   | +   | +  |
| Xylose                       | ±  | -   | -    | -   | -   | -  |

Gruppe II: Lactobacillus plantarum

Artdefinition (s. auch Tab. 1): Homofermentativ, hydrolysiert Aesculin, bildet meist Acetoin aus Glucose, nie Ammoniak aus Arginin. Hydrolysiert Hippurat, toleriert Galle in einer Konzentration von 2 bis 10%, Phenol bei 0,4% und NaCl bei 4 und 8 %. Lackmusmilch wird gesäuert und koaguliert. Gebildete Milchsäure ist optisch inaktiv. Wachstum bei 15<sup>0</sup> C, nicht mehr bei 45<sup>0</sup> C. Kolonieformen: S. Zellform: 0,7 bis 1,0  $\mu$  dicke 3,0 bis 8,0  $\mu$  lange Stäbchen, an den Ecken abgerundet. Einzel- liegend oder zu mehreren in kurzen Ketten.

Säure wird gebildet aus Cellobiose, Fructose, Galactose, Glucose, Lactose, Laevulose, Maltose, Mannit (schwach), Mannose, Melibiose, Raffinose, Saccharose, Salicin und Trehalose. Die Mehrzahl der Stämme vergärt  $\alpha$ -Methylglucosid, Arabinose, Dextrin, Melizitose, Rhamnose und Sorbit. Von nur wenigen Stämmen werden vergoren Glycerin und Xylose. Nicht verwertet werden können Dulcitol, Inositol, Inulin, Sorbose und Stärke.

Abweichung der auf Milch-Peptonagar gewachsenen Laktobazillen (s. Tab.2): Bei 15<sup>0</sup> C wuchs nur die Hälfte, bei 45<sup>0</sup> C 2/3 der isolierten Stämme. Mannit sollte vergoren werden, wurde jedoch von 2/3 der Stämme überhaupt nicht verwertet. Auch bei Gruppe II konnten die 41 Stämme in 6 weitere Untergruppen unterteilt werden, da die einzelnen Laktobazillen-Stämme variierten hinsichtlich ihrer Reaktion bei der Acetoinbildung (23 Stämme), der Gerinnung der Lackmusmilch (23 Stämme), dem Wachstum bei 15<sup>0</sup> C (11 Stämme), dem Wachstum bei 45<sup>0</sup> C (12 Stämme), dem Koloniebild (nur 11 Stämme eindeutige S-Form) und ihrem wechselnden Verhalten gegenüber folgenden Kohlenhydraten: Arabinose, Mannit, Melizitose, Thamnose und Xylose. Diese Variationsformen sind in Tabelle IV festgehalten.

**Tabelle 4** Variationsformen von *Lactobacillus plantarum* unter unseren Stämmen

| Untergruppen                  | A   | B   | C   | D   | E  | F   |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|----|-----|
| Zahl der Stämme               | 12  | 11  | 7   | 6   | 3  | 2   |
| Aesculin                      | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Acetin                        | -   | -   | +   | +   | +s | +s  |
| Arginin                       | -   | -   | -   | -   | -  | -   |
| Gas aus Glucose               | -   | -   | -   | -   | -  | -   |
| Säuerung<br>der Lackmusemilch | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Gerinnung                     | +s  | +s  | +   | +   | +  | +   |
| Wachstum bei 15°C             | +s  | +s  | -   | +   | +  | +   |
| Wachstum bei 45°C             | -   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Koloniebild                   | R/S | R/S | S/R | S   | S  | S   |
| Arabinose                     | (+) | -   | -   | (+) | -  | (+) |
| Cellobiose                    | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Dextrin                       | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Galactose                     | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Lactose                       | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Maltose                       | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Mannit                        | -   | -   | -   | +   | -  | +   |
| Mannose                       | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Melibiose                     | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Melzitose                     | +   | +   | +   | +   | ±  | (+) |
| Raffinose                     | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Rhamnose                      | +   | ±   | ±   | +   | -  | +   |
| Saccharose                    | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Salicin                       | +   | +   | +   | +   | +  | +   |
| Trehalose                     | +   | +   | ±   | +   | +  | +   |
| Xylose                        | (+) | -   | -   | +   | -  | +   |

Gruppe III: *Lactobacillus leichmannii*  
=====

Artdefinition (s.Tab.1): Homofermentativ, hydrolysiert Aesculin, bildet kein Acetoin aus Glucose und kein Ammoniak aus Arginin. Toleriert Galle in einer Konzentration von 2%, nicht mehr bei 3 und 4 %. Über Phenol- und NaCl-Toleranz liegen keine Angaben vor. Lackmusmilch wird nicht gesäuert und koaguliert. Gebildete Milchsäure ist linksdrehend. Kein Wachstum bei 15<sup>0</sup> C, oft jedoch bei 45<sup>0</sup> C. Kolonieform: R. Zellform: 0,6 bis 2,0  $\mu$  dicke und 4  $\mu$  lange Stäbchen, zwei oder mehr stark gefärbte Granula, kurze Ketten oder Einzelzellen.

Säure wird gebildet aus Cellobiose, Fructose, Galactose (schwach), Glucose, Laevulose, Maltose, Mannose, Saccharose, Salicin und Trehalose. Die Mehrzahl der Stämme vergärt  $\alpha$ -Methylglucosid (schwach), Mannit. Von wenigen Stämmen wird vergoren Galactose. Nicht vergoren werden Arabinose, Dextrin, Dulcitol, Glycerin, Inosit, Inulin, Lactose, Melibiose, Melizitose, Raffinose, Rhamnose, Sorbit, Sorbose, Stärke und Xylose.

Abweichung der auf Milch-Peptonagar gewachsenen

Lactobacillen (s.Tab.2): Es zeigte sich im großen und ganzen eine gute Übereinstimmung, nur Dextrin und Galactose wurden grundsätzlich von allen Stämmen vergoren, dagegen Mannit nie und Trehalose nicht immer.

Gruppe IV: *Lactobacillus delbrückii*  
=====

Artdefinition (s.Tab.1): Homofermentativ, keine Aesculinhydrolyse, Bildung von Acetoin aus Glucose und Bildung von Ammoniak aus Arginin. Toleriert Galle in 2% Konzentration, nicht bei höheren Konzentrationen. Lackmusmilch zeigt keine Säuerung und Gerinnung. Es entsteht l-Milchsäure bei der Gärung. Kein Wachstum bei 15<sup>0</sup> C, meist aber bei 45<sup>0</sup> C.

Kolonieform: R . Zellform: 0,5 bis 0,8  $\mu$  breite und 2,0 bis 9,0  $\mu$  lange Stäbchen, einzeln und in kurzen Ketten vorkommend. Säure wird gebildet aus Dextrin, Fructose, Glucose, Laevulose und Mannose. Die Mehrzahl der Stämme vergärt Galactose, Maltose und Saccharose. Von wenigen Stämmen wird vergoren Mannit, Melibiose, Stärke (schwach) und Trehalose. Nicht vergoren werden  $\alpha$ -Methylglucosid, Arabinose, Cellobiose, Dulcit, Glycerin, Inosit, Inolin, Lactose, Melizitose, Raffinose, Rhamnose, Salicin, Sorbit, Sorbose und Xylose.

Abweichung der aus Milch-Peptonagar isolierten

Lactobacillen (s. Tab.2): Acetoinbildung und Ammoniakbildung konnte in keinem Fall beobachtet werden. Außerdem vergoren sämtliche Stämme Melibiose und Raffinose. Dagegen wurde Melizitose nur von 2/5 der Stämme vergoren.

Gruppe V: Lactobacillus acidophilus  
=====

Artdefinition (s.Tab.1): Homofermentativ. Keine Aesculinhydrolyse, keine Acetoinbildung, keine Ammoniakbildung aus Arginin. Auch Hippurat wird nicht hydrolysiert. Galletoleranz bei 2% Konzentration, nicht bei 3 und 4%. Toleriert NaCl in einer Konzentration von 4%, nicht bei 8%. Säuerung und Koagulation von Lackmuskmilch. Gebildete Milchsäure ist optisch inaktiv. Kolonieform: RI . Zellform: 0,6 bis 0,9  $\mu$  dicke und 1,5 bis 6,0  $\mu$  lange Stäbchen, einzeln, in Ketten und in kurzen Ketten vorkommende Stäbchen mit abgerundeten Ecken.

Säure wird gebildet aus Amygdalin, Lactose, Laevulose, Maltose, Mannose, Raffinose und Saccharose. Die Mehrzahl der Stämme vergärt Salicin und Trehalose, die Hälfte Cellobiose und Melibiose. Von wenigen Stämmen wird vergoren Dextrin und Raffinose. Nicht vergoren werden  $\alpha$ -Methylglucosid, Arabinose, Dulcit, Glycerin, Inosit, Inolin, Mannit, Melizitose, Rhamnose, Sorbit, Sorbose, Stärke und Xylose.

Abweichung der auf Milch-Peptonagar isolierten Lactobacillen (s.Tab.2): Es wird immer Dextrin und Raffinose vergoren.

Gruppe VI: *Lactobacillus pastorianus*

=====

Artdefinition (s.Tab.1): Heterofermentativ, Hydrolyse von Aesculin, keine Acetoinbildung, aber Ammoniakbildung aus Arginin. Meist Säuerung und Gerinnung der Lackmusmilch. Wachstum bei 15° C und 45° C. Kolonieform: S. Zellform: 0,5 bis 1,0 dicke und 7,0 bis 35,0  $\mu$  lange Stäbchen, einzeln und in Ketten.

Säure wird gebildet aus Arabinose, Cellobiose, Dextrin, Fructose, Galaktose, Glucose, Laevulose, Maltose, Mannit (schwach), Mannose, Saccharose, Salicin und Trehalose. Die Mehrzahl der Stämme vergärt Lactose, Melibiose und Raffinose. Die Hälfte vergärt Xylose. Von wenigen Stämmen werden vergoren Melizitose und Stärke. Nicht vergoren werden Inosit, Inulin, Rhamnose und Sorbose.

Abweichungen der auf Milch-Peptonagar isolierten Lactobacillen (s.Tab.2): Keine Vergärung gaben unsere Stämme bei Dextrin, Mannit, Mannose und Trehalose. In Lackmusmilch gab es keine Säuerung und Gerinnung.

Gruppe VII: *Lactobacillus brevis*

=====

Artdefinition (s.Tab.1): Heterofermentativ, Aesculinhydrolyse, keine Acetoinbildung, meist Ammoniakbildung aus Arginin, hydrolysiert Hippurat. Toleriert Galle in einer Konzentration von 2,3 und 4%, nicht mehr bei 10%. Auch Phenol 0,4%ig wird toleriert. Toleranz von NaCl bei 4%, nicht bei 8%iger Konzentration. Säuerung von Lackmusmilch selten, Gerinnung nie. Gebildete Milchsäure ist optisch inaktiv. Wachstum meist bei 15° C, seltener bei 45° C. Kolonieform: RI, Manchmal S. Zellform: 0,7 bis 1,0  $\mu$

u dicke und 2,0 bis 4,0  $\mu$  lange Stäbchen mit abgerundeten Enden. Kommen einzeln und in kurzen Ketten vor, gelegentlich in langen Fäden. Können Granulationen zeigen.

Säure wird gebildet aus Arabinose, Fructose, Galactose, Glucose, Laevulose, Maltose und Xylose. Die Mehrzahl der Stämme vergärt Melibiose; die Hälfte Lactose und Raffinose. Von wenigen Stämmen werden vergoren Mannit, Mannose, Saccharose und Salicin. Nicht vergoren werden Cellobiose, Dextrin, Dulcit, Glycerin, Inosit, Inulin, Melizitose, Rhamnose, Sorbit, Sorbose, Stärke und Trehalose.

Abweichung des auf Milch-Peptonagar gewachsenen Stammes (s.Tab.2): Dieser Stamm zeigte nur ein unterschiedliches Verhalten gegenüber Cellobiose, Saccharose und Salicin, die er vergor.

#### Gruppe VIII: *Lactobacillus buchneri*

=====

Artdefinition (s.Tab.1): Heterofermentativ. Aesculin wird nicht hydrolysiert. Acetoin aus Glucose wird nicht gebildet. Ammoniakbildung aus Arginin. Meist Hydrolyse von Hippurat. Toleranz von Galle in Konzentration von 2 und 3%, nicht 4%. Keine Säuerung und Gerinnung von Lackmusmilch. Gebildete Milchsäure ist optisch inaktiv. Meist Wachstum bei 15<sup>0</sup> C, nie bei 45<sup>0</sup> C. Kolonieform: RI. Zellform: 0,35 bis 0,7  $\mu$  dicke und 4,0  $\mu$  lange Stäbchen. Kommen einzeln, in Paaren und Ketten oder in Fäden von 25  $\mu$  und länger vor.

Säure wird gebildet aus  $\alpha$ -Methylglucosid, Arabinose, Fructose, Glucose, Laevulose, Maltose, Melizitose, Saccharose und Xylose. Die Mehrzahl der Stämme vergärt Dextrin, Galaktose, Melibiose und Raffinose. Die Hälfte vergärt Lactose. Von wenigen Stämmen werden vergoren Glycerin, Mannit, Mannose, Rhamnose, Sorbit und Stärke. Nicht vergoren werden Cellobiose, Dulcit, Inosit, Inulin, Salicin, Sorbose und Trehalose.

Abweichung des auf Milch-Peptonagar gewachsenen Stammes (s.Tab.2): Dieser Stamm wurde aus Sauerteig isoliert und zeigte schwache Säurebildung in Lackmusmilch.

Gruppe IX: *Lactobacillus fermenti*  
=====

Artdefinition (s.Tab.1): Heterofermentativ. Keine Aesculinhydrolyse, keine Acetoinbildung, jedoch Ammoniakbildung aus Arginin. Hippurat wird nicht hydrolysiert. Nur 2%ige Galle wird toleriert. Phenoltoleranz bis 0,4%. NaCl wird bei 4% toleriert, nicht bei 8%. Keine Säuerung der Lackmusmilch oder selten schwach. Gerinnung keine. Gebildete Milonsäure ist optisch inaktiv. Kein Wachstum bei 15<sup>0</sup> C, jedoch immer bei 45<sup>0</sup> C. Kolonieform: S. Zellform: Variabel oder 0,5 bis 1,0 u breite und 3,0 bis 15 u lange Stäbchen, manchmal in Paaren oder Ketten.

Säure wird gebildet aus Fructose, Galactose, Glucose, Lactose, Laevulose, Maltose, Mannose, Saccharose. Die Mehrzahl der Stämme vergärt -Methylglucosid, Melibiose und Raffinose. Von wenigen Stämmen werden vergoren Arabinose, Mannit, Trehalose und Xylose. Nicht vergoren werden Cellobiose, Dextrin, Dulcit, Glycerin, Inosit, Inulin, Melizitose, Rhamnose, Salicin, Sorbit, Sorbose und Stärke.

Abweichung der auf Milch-Peptonagar isolierten Laktobazillen (s.Tab.2): Von diesen stammte einer aus der menschlichen Mundhöhle, fünf aus der menschlichen Vagina und je ein Stamm aus Joghurt und Sauerteig. Ein unterschiedliches Verhalten zeigten alle genannten Stämme hinsichtlich der Vergärbarkeit von Cellobiose und Dextrin, die beide bis auf zwei Ausnahmen vergoren wurden. Mannose wurde von keinem Stamm verwertet, dagegen Saccharose immer.

Die Frage nach der Aufgliederung einzelner Stämme von Laktobazillen nach ihrem Fundort wird durch die in Tabelle V dargelegten Ergebnisse dargestellt.

Daraus geht hervor, daß im cavum oris der weißen Ratte keine heterofermentativen Arten, d.h. Betabakterien gefunden wurden. Unter den homofermentativen Arten stellt die Species *Lactobacillus casei* den Hauptanteil mit 53,9 % der isolierten Laktobazillen. Dann folgt *Lactobacillus plantarum* mit 30,8 % und *Lactobacillus leichmannii* mit 2,5 %. Weitere Streptobakterien wurden nicht gefunden. Von den Thermobakterien waren *Lactobacillus delbrückii* mit 5 % und *Lactobacillus acidophilus* mit 7,7 % vertreten.

Auch bei den aus der menschlichen Mundhöhle isolierten Laktobazillen stellten die Streptobakterien die überwiegende Mehrheit. *Lactobacillus casei* war in 48 % und *Lactobacillus plantarum* in 44,5 % vorhanden. Unter den Subgenera Thermo- und Betabakterium fand sich jeweils nur eine Spezies mit je 3,7 %. Dies waren *Lactobacillus acidophilus* und *Lactobacillus fermenti*,

Die aus der menschlichen Vagina isolierten Stämme gliederten sich folgendermaßen auf: Drei von 11 Stämmen konnten wir der Species *Lactobacillus casei* und zwei der Species *Lactobacillus leichmannii* zuordnen. Kein Stamm war in *Lactobacillus acidophilus* bzw. in dem Subgenus Thermobakterium zu finden. Dagegen definierten wir einen Stamm als *Lactobacillus pastorianus* und fünf weitere als *Lactobacillus fermenti*.



elle 5 Aufgliederung der von  
uns isolierten Stämme  
nach Arten und Fundort

| Herkunft aus    |                           | Cavum oris<br>der Ratte | Menschl.<br>Mundhöhle | Menschl.<br>Vagina | Sauerteig | Joghurt | Verschieden<br>(Sauermilch,<br>-kraut, Käse) | Gesamtzahl d.<br>unters. Stämme |
|-----------------|---------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|-----------|---------|----------------------------------------------|---------------------------------|
|                 |                           | in Prozent bzw.         |                       | Zahl der Stämme    |           |         |                                              |                                 |
| Bacterium       | Lactobacillus casei       | 53, 9% (42)             | 48, 1% (13)           | 3                  | 4         |         | 2                                            | 44, 1% (64)                     |
|                 | Lactobacillus plantarum   | 30, 8% (24)             | 44, 5% (12)           |                    | 2         |         | 3                                            | 28, 3% (41)                     |
|                 | Lactobacillus leichmannii | 2,53% ( 2)              |                       | 2                  | 1         |         |                                              | 3,45% ( 5)                      |
| Bact.           | Lactobacillus delbrückii  | 5,07% ( 4)              |                       |                    | 1         |         |                                              | 3,45% ( 5)                      |
|                 | Lactobacillus acidophilus | 7,7 % ( 6)              | 3, 7% ( 1)            |                    |           | 7       | 4                                            | 12, 4% (18)                     |
|                 | Lactobacillus pastroianus |                         |                       | 1                  | 1         |         |                                              | 1,38% ( 2)                      |
|                 | Lactobacillus brevis      |                         |                       |                    | 1         |         |                                              | 0,71% ( 1)                      |
|                 | Lactobacillus buchneri    |                         |                       |                    | 1         |         |                                              | 0,71% ( 1)                      |
|                 | Lactobacillus fermenti    |                         | 3, 7% ( 1)            | 5                  | 1         | 1       |                                              | 5, 5% ( 8)                      |
| Prozent         |                           | 100 %                   | 100 %                 |                    |           |         |                                              | 100%                            |
| Zahl der Stämme |                           | (78)                    | (27)                  | 11                 | 12        | 8       | 9                                            | (145)                           |



Die zum Vergleich durchgetesteten Sauerteiglaktobazillen stammten von G. Spicher bis auf drei frisch isolierte Stämme der Species *Lactobacillus casei* und ein Stamm der Species *Lactobacillus plantarum*.

Von den acht Stämmen aus Joghurt gehörten sieben der Species *Lactobacillus acidophilus* an, der achte wurde als *Lactobacillus fermenti* definiert. Außerdem fielen in die Gruppe *Lactobacillus casei* je ein aus Sauerkraut und Camembert-Käse isolierter Stamm. Zur Gruppe *Lactobacillus plantarum* ordneten wir noch zwei Stämme aus Camembert-Käse und ein Stamm aus Gervais-Käse zu. Ein weiterer Stamm aus Gervais-Käse und drei Stämme aus Sauermilch könnten der Species *Lactobacillus acidophilus* zugeordnet werden.

Im Ganzen gesehen stellten die Streptobakterien den überwiegenden Hauptanteil der untersuchten Laktobazillen-Stämme. *Lactobacillus casei* führte mit 44 % gefolgt von *Lactobacillus plantarum* mit 28 % und *Lactobacillus leichmannii* mit 3,5 %. Bei den Thermobakterien war *Lactobacillus delbrückii* mit 3,5 % und *Lactobacillus acidophilus* mit 12,4 % vertreten. Bei den Betabakterien fielen 5,5 % in die Species *Lactobacillus fermenti*, 1,4 % in die Species *Lactobacillus pastorianus*. Je 0,7 % wurden als *Lactobacillus brevis* und *Lactobacillus buchneri* definiert.

#### IV Diskussion

Der Ausfall unserer Ergebnisse gestattet es, das G e n u s *L a c t o b a c i l l u s* in drei Subgenera zu unterteilen, wie dies ja bereits früher von ORLA - JENSEN (56,59) vorgeschlagen wurde. Er nannte die drei Genera *Thermobakterium*, *Streptobakterium* und *Betabakterium*. Auch KUNDRAT (44) befürwortete diese Unterteilung ebenso wie DAVIS (10), der allerdings die *Thermobakterien* und *Betabakterien* nochmals unterteilt sehen möchte. Die dadurch erhaltenen 5 Gruppen hält er für völlig ausreichend und eine weitere Unterteilung nicht mehr für wünschenswert. ROGOSA (69) dagegen unterstützt die Abtrennung der heterofermentativen Spezies als Genus *Betabakterium* ORLA-JENSEN, und möchte den Genus *Lactobacillus* BEIJERINCK für die homofermentativen Arten reserviert wissen.

Ausgeschieden aus den *Thermobakterien* sollte jedoch die Spezies *Lactobacillus caucasicus* ORLA-JENSEN werden, da es sich hierbei wahrscheinlich um eine ungenügend von ORLA-JENSEN (56) beschriebene Spezies handelt und diese später nie wieder isoliert werden konnte.

Ebenfalls abzutrennen von dem Genus *Lactobacillus* BEIJERINCK wäre unserer Ansicht nach *Lactobacillus bifidus*, da er einmal streng anaerob ist, sich aber auch morphologisch ganz auffallend verschieden von den übrigen *Lactobacillen* erweist.

Als groben Anhaltspunkt für die Zuordnung der einzelnen Laktobazillen in einzelne Spezies kann man ganz gut folgenden Schlüssel verwenden: Gasbildung bei der Vergärung von Glukose = heterofermentativ-homofermentativ. Eine weitere Unterteilung ermöglicht dann die Hydrolyse von Aesculin bzw. Hippurat. Wenn dann die weiteren Merkmale bei den übrigen

physiologischen Testen und der Vergärung verschiedener Kohlenhydrate nicht übereinstimmen, dann ist daran zu denken, daß es bezüglich der Aesculinhydrolyse Varianten gibt bei: *Lactobacillus acidophilus*, *casei*, *plantarum* und *brevis*.

Eine völlige Übereinstimmung im Vorzeichen aller Gär- und physiologischen Versuche wurde nicht immer erzielt. Doch das ist mit der Variationsmöglichkeit innerhalb der einzelnen Spezies zumal bei der Isolierung aus verschiedenen Herkünften leicht zu erklären. Aber auch die Methodik kann dazu Anlaß sein. Dies zeigte KUNDRAT (44) bei einer Gegenüberstellung einiger gebräuchlicher Arbeitsweisen. Er fand dabei, daß verschiedene Verfahren bei den Gärtesten in Boullion ganz verschiedene Ergebnisse liefern können. Immerhin sei aber bei jedem Verfahren mehr oder weniger ein Schwerpunkt feststellbar.

Die Unterscheidung zwischen unseren *Lactobacillus casei* - und *Lactobacillus plantarum* - Stämmen fiel in dieser Arbeit schwer. Die im BERGEY'S MANUAL (4) angegebene Trennung dieser zwei Spezies durch die Bestimmung der Modifikation der gebildeten Milchsäure ist nach ORLA-JENSEN (56), PEDERSON (64), HARRISON und HANSEN (28) nicht zuverlässig. Gut zu trennen sind *Lactobacillus casei* und *Lactobacillus plantarum* durch die Reaktion auf Melibiose, ORLA-JENSEN (59), ROGOSA (69), WHEATER (88). Unsere Stämme vergoren jedoch alle Melibiose und auch Raffinose, die sich ja-wie wir oben gesehen haben-gleich verhält. Eine Erklärung dafür fällt uns schwer, da wir eine Verunreinigung des Zuckers wohl auszuschließen können glauben. Rätselhaft ist ebenfalls, das gleiche Verhalten eines uns von SPICHER überlassenen Vergleichsstammes. Die Trennung wurde deshalb aufgrund der Fähigkeit, Lackmusmilch schnell oder langsam zu koagulieren, vorgenommen. Denn nach DAVIS (13), WHEATER (88) und SPICHER (79) wird Lackmusmilch von

*Lactobacillus casei* schneller als von *Lactobacillus plantarum* koaguliert. Die zusätzliche Untersuchung von 4%iger Galle hätte nach KUNDRAT (44) und WHEATER (88) die Differenzierung allerdings leichter gemacht.

Um unsere Ergebnisse bezüglich des Fundortes besser auswerten zu können, haben wir in Tabelle V die Ergebnisse verschiedener Autoren nach Arten und Fundort zusammengetragen (und zum Teil auch den prozentuellen Anteil der einzelnen Arten berechnet). Das geschah außerdem aus statistischen Gründen, denn nur bei den aus dem cavum oris der weißen Ratte mit florider Zahnkaries gewonnenen Laktobazillen-Stämmen war gewährleistet, daß es sich um einen echten Querschnitt der dort vorhandenen Flora handelte, da diese Stämme aus rund 30 verschiedenen Proben stammten.

Die Stämme aus den restlichen Fundorten sollten nur einen orientierenden Charakter besitzen, um festzustellen, ob diese sich differentialdiagnostisch von denen der menschlichen Mundhöhle und des cavum oris der weißen Ratte während einer gleichzeitig bestehenden oder sich entwickelnden floriden Karies abgrenzen lassen.

Die Laktobazillen aus dem cavum oris der weißen Ratte standen deshalb im Vordergrund des Interesses, da in einer früheren Arbeit (50) die Abhängigkeit der Tierzahnkaries von der Keimflora ergab, daß die Laktobazillen zu Beginn der Kariesentwicklung gehäuft zugenommen haben. Da diese Laktobazillen aber auf dem gleichen Nährboden eine andere Morphologie,

Tabelle 5a Aufgliederung der von den einzelnen Autoren isolierten Stämme nach Arten und Fundort

| Autor                         | Tilden<br>u. Svec     | Rogosa<br>et al.      | Davis                 | Jordan<br>u. Fitz-<br>gerald | Je<br>Ed       |
|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------------|----------------|
| Zahl der isolierten<br>Stämme | in                    |                       |                       |                              |                |
| L. lactis                     |                       |                       |                       |                              |                |
| L. helveticus                 |                       |                       |                       |                              |                |
| L. acidophilus                | 4,1% ( 4)             | 11,0( 55)             | 12,1 ( 57)            | 15,8( 28)                    |                |
| L. bulgaricus                 |                       |                       |                       |                              |                |
| L. delbrückii                 |                       |                       |                       |                              |                |
| L. casei                      | 41,2% (40)            | 39,2(196)             | 45,5 (215)            |                              | 2              |
| L. casei(Lactose-)            |                       |                       |                       |                              | 3              |
| L. plantarum                  | 11,4% (11)            | 2,0( 10)              | 2,95( 14)             |                              |                |
| L. arabinosus                 |                       | 1,2( 6)               |                       |                              |                |
| L. leichmannii                |                       | 2,2( 11)              |                       |                              |                |
| L. salivarius                 |                       |                       |                       |                              |                |
| Unidentifizierbar             | 9,3% ( 9)             | 0,4( 2)               |                       | 43,2( 77)                    |                |
| L. brevis                     | 3,1% ( 3)             | 6,2( 31)              | 4,85( 23)             |                              |                |
| L. pastorianus                |                       |                       |                       |                              |                |
| L. buchneri                   | 7,2% ( 7)             | 5,0( 25)              |                       |                              | 1              |
| L. fermenti                   | 20,6% (20)            | 30,8(154)             | 34,6 (164)            | 41,0( 73)                    |                |
| L. cellobiosus                |                       | 1,2( 6)               |                       |                              |                |
| Unidentifizierbar             | 3,1% ( 3)             | 0,8( 4)               |                       |                              |                |
| Summe und Gesamtzahl          | 100,0% (97)           | 100,0(500)            | 100,0 (473)           | 100,0(178)                   | 10             |
| Herkunft der Stämme           | Menschl.<br>Mundhöhle | Menschl.<br>Mundhöhle | Menschl.<br>Mundhöhle | Cavum oris<br>der Ratte      | Ri<br>Pa<br>In |

| sen u.<br>ndson                    | Jensen u.<br>Edmondson | Kundrat                             | Spicher                                           | Lerche u.<br>Reuter                    | Rogosa u.<br>Sharpe   |
|------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------|
| Prozent                            |                        |                                     |                                                   |                                        |                       |
|                                    | 2,0                    | 10,4 ( 21)<br>15,9 ( 32)            |                                                   | 3,85( 7)<br>1,1 ( 2)                   |                       |
| 1,75( 12)                          | 6,9<br>1,0             | 17,85( 36)<br>8,95( 18)<br>1,49( 3) | 3,4 ( 4)                                          | 4,4 ( 8)                               | 66,66(14)             |
| 1,8 ( 4)<br>0,6 ( 46)<br>3,55( 52) | 50,0<br>19,6           | 24,35( 49)<br>3,98( 8)<br>3,98( 8)  | 13,3 ( 16)<br>30,0 ( 36)<br>1,7 ( 2)              | 11,0 ( 20)<br>22,5 ( 41)<br>8,25( 15)  | 9,53( 2)              |
| 3,23( 5)<br>9,35( 30)<br>3,85( 6)  | 2,9<br>7,8<br>9,8      | 2,98( 6)<br>3,98( 8)<br>5,98( 12)   | 26,4 ( 32)<br>9,15( 11)<br>4,15( 5)<br>11,65( 14) | 15,9 ( 29)<br>18,7 ( 34)<br>14,25( 26) | 19,04( 4)<br>4,77( 1) |
| 0,0 (155)                          | 100,0(92)              | 100,0 (201)                         | 100,0 (120)                                       | 100,0 (182)                            | 100,0 ( 21)           |
| nder-<br>nsen-<br>halt             | Milch                  | Milch u.<br>-produkte               | Sauerteig                                         | Lebens-<br>mittel u.<br>Faeces         | Menschl.<br>Vagina    |

nämlich eine raue Kolonieform, aufwiesen als Laktobazillen aus der menschlichen Mundhöhle, die meist als glatte Kolonie wuchsen, lag die Vermutung nahe, daß es sich jeweils um verschiedene Arten des Genus *Lactobacillus* handelte, und daß es vielleicht möglich wäre, vom morphologischen und biochemischen Verhalten der Stämme Rückschlüsse auf ihren Fundort zu ziehen.

Unsere Ergebnisse haben jedoch gezeigt, daß zwar einige Species den einen oder anderen Fundort bevorzugen, aber mehr oder weniger stark die Möglichkeit besitzen, sich auch an anderen Stellen anzusiedeln.

Am weitesten verbreitet und am wenigsten an ein streng spezifisches Milieu gebunden scheinen die Species *Lactococcus casei*, *plantarum*, *acidophilus*, *fermenti* und *brevis* zu sein.

Wir können also nicht aus dem morphologischen und biochemischen Verhalten eines Stammes auf seinen Fundort Rückschlüsse ziehen. Denn das Verhalten wird auch durch die Art der Untersuchungsmethodik und die Wahl des verwendeten Nährbodens mitbestimmt.

Vergleichen wir die Häufigkeit des Vorkommens der von uns aus dem cavum oris der weißen Ratte isolierten Laktobazillen-Stämme mit den Ergebnissen anderer Autoren, so ergibt sich folgendes Bild: Die Autoren ROSEN, RAGHEB, HUNT und HOPPERT (73) differenzierten zwar 23 Gruppen auf Tomatensaftagar und einem Selektiv-Nährboden, wobei sie auch die Fähigkeit verschiedene Kohlenhydrate zu vergären und Lackmusmilch anzusäuern bzw. zur Gerinnung zu bringen, untersuchten. Jedoch führten sie diese Gruppen nicht auf definierte Species zurück. Sie waren aber der Meinung, daß die meisten isolierten

Stämme homofermentativ sind. Diese Ansicht können wir aufgrund unserer Ergebnisse in Tabelle V bestätigen.

Ebenfalls mit der Klassifizierung von aus dem *cavum oris* der weißen Ratte isolierten Laktobazillen beschäftigten sich JORDAN und FITZGERALD (40). Dabei handelte es sich um 178 Stämme, die von mit verschiedenen Kostformen ernährten, weißen Ratten herstammten. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von ROSEN u.a. (13) und unseren konnte er 41% seiner Stämme der heterofermentativen Species *Lactobacillus fermenti* zuordnen. 14,8% fielen in die Species *Lactobacillus acidophilus*. 43,2% der Stämme ließen sich zwar noch in zwei größere Gruppen, eine à 24 Stämme und eine à 37 Stämme unterteilen, besaßen jedoch keine Ähnlichkeit mit definierten Arten. Die restlichen 16 Stämme paßten weder zu einer definierten Species, noch ließen sie sich zu einer Gruppe zusammenfassen, da ihre Eigenschaften zu heterogen waren.

In der menschlichen Mundhöhle haben wir bei bestehender Karies die Species *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* und *L. fermenti* nachgewiesen. Auf die eben genannten Species und außerdem die Species *L. brevis* konnte DAVIS (10) ca. 400 Laktobazillen aus der Mundhöhle zurückführen. Zum Vergleich dienten ihm rund 10 Stämme aus Laboratorien der Industrie und Milchwirtschaft. Seine Ergebnisse stehen bezüglich der Häufigkeit in enger Korrelation mit denen von ROGOSA u.a. (39), die jedoch mehr Arten gefunden haben. Das ist sicher darauf zurückzuführen, daß bei 500 aus der Mundhöhle von 130 Volksschülern isolierten Laktobazillen-Stämmen ein sehr breites Spektrum bei der Differenzierung erreicht wurde. Unter den homofermentativen Stämmen rechneten sie 1,2% der Species *L. arabinosus* und 2,2% der neu beschriebenen Species *L. salivarius* zu. 56 der isolierten Laktobazillen-Stämme fielen unter die heterofermentative

Species *L. buchneri* und 1,2% unter die ebenfalls neu beschriebene Species *L. cellobiosus*. Die anderen Werte entsprachen etwa denen von DAVIS (10). Wir würden jedoch vorschlagen für *L. arabinosus* und *L. pentosus* keine neue Species aufzustellen, sondern sie weiterhin als Varianten von *Lactobacillus plantarum* zu führen, wie dies auch PEDERSON (62) und WHEATER (88) befürworteten. Ebenfalls als Variation einer anderen Species, nämlich von *L. pastorianus*, möchten wir die neue Art *Lactobacillus cellobiosus* auffassen, da sie sich nur in der Salicin- und Mannitvergärung voneinander unterscheiden.

Prozentual etwas variierend ergeben doch auch die Ergebnisse von TILDEN und SVEC (81) eine Beziehung zu den Werten von ROGOSA u.a. (69). Auffallend ist jedoch, daß sowohl TILDEN und SVEC (81) als auch ROGOSA u.a. (69) einen relativ hohen Prozentsatz von der Species *L. buchneri* in der menschlichen Mundhöhle gefunden haben, während DAVIS (10) und wir keinen Stamm dieser Species isolieren konnten. Man könnte sich vorstellen, daß dies ernährungsmäßig bedingt ist, da *Lactobacillus buchneri* relativ häufig in Lebensmitteln gefunden wird.

Die Zugehörigkeit der "Döderleinschen Stäbchen" zum Genus *Lactobacillus Beijerinck* wurde in dieser Arbeit auch untersucht, da in einer Arbeit von HUNTER, LONG und SCHUMACHER (35) aufgrund von Versuchen die Vermutung geäußert wurde, daß die Döderleinschen Bazillen nicht einer Species angehörten. Wir haben ihre Ergebnisse analysiert und folgende Species gefunden: *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. buchneri* und *L. fermenti*. HAENEL (24) dagegen behauptet, im Vaginalsekret geschlechtsreifer Frauen überraschenderweise nur anaerobe Laktobazillen, welche sich in eingehenden Untersuchungen als *Lactobacillus bifidus* erwiesen, entdeckt

zu haben. Acidophilus-Bakterien seien nur in einem geringen Anteil nachzuweisen gewesen.

Bei Untersuchungen durch ROGOSA und SHARPE (71) ergab sich, daß von 21 Laktobazillen-Stämmen aus dem Vaginalsekret bei anaerober Bebrütung 14 Stämme der Species *Lactobacillus acidophilus*, zwei der Species *L. casei*, vier der Species *L. fermenti* und ein Stamm der Species *L. cellobiosus* zuzuordnen waren. Diesem letzten Stamm entspricht der von uns definierte *L. pastorianus* (Begründung siehe oben). Übereinstimmend mit den oben genannten Autoren isolierten wir von unseren 11 Stämmen 3 als *Lactobacillus casei*, 1 als *L. pastorianus* und 5 als *L. fermenti*. Im Gegensatz zu den obigen Autoren haben wir außerdem 2 Stämme von *L. leichmannii* gefunden. Keiner unserer Stämme war jedoch von der Species *L. acidophilus*. Wir führen das darauf zurück, daß wir auch sämtliche Keime des Vaginalabstriches aerob bebrütet haben. Deshalb hatten wir auch bei der Dauerkultur große Schwierigkeiten, die Kulturen am Leben zu erhalten und ein Teil der isolierten Stämme war nach der Durchprüfung der halben Testreihe abgestorben.

In einer Arbeit von POCH und MÜLLER (67) entsprachen etwa die Hälfte der auf Thioglycolat-Medium gewachsenen 31 "Döderleinschen Stäbchen" dem Vergärungstyp *Lactobacillus acidophilus* WHEATER (86). Die restlichen Stämme wurden leider nicht mehr klassifiziert.

Es scheint nach den vorliegenden Literaturangaben und den eigenen Untersuchungen, daß sich die Döderleinschen Stäbchen auf mehrere Species des Genus *Lactobacillus* Beijerinck verteilen, genauso wie Laktobazillen aus anderen Fundorten meist eine Mischflora aus mehreren Species des Genus *Lactobacillus* darstellen.

## V Zusammenfassung

Grampositive, stäbchenförmige Milchsäurebakterien sind auf den Schleimhäuten des Menschen und in der Natur sehr verbreitet. Dem Mediziner sind sie unter dem Namen Laktobazillen, Döderleinsche Stäbchen, Boas-Opplersche Bazillen und Bifidusbakterien bekannt.

In der Mundhöhle werden sie als Erreger der Zahnkaries angeschuldigt, während auf anderen Schleimhäuten die durch sie gebildete Milchsäure als Fäulnisbekämpfer angesehen wird. Im Rahmen der Symbiontenproblematik werden die Laktobazillen daher als günstig angesehen. Doch die Frage, ob es einen speziellen für den Zahn pathogenen Laktobazillus gibt, wurde immer wieder aufgeworfen.

Um Stellung zu diesen Fragen nehmen zu können, haben wir aus dem *cavum oris* weißer Ratten - während experimentell erzeugter Kariesentwicklung - 78 Laktobazillenstämme isoliert. Außerdem isolierten wir 27 Stämme aus der Mundhöhle bei florider Zahnkaries und 11 Stämme aus der Vagina geschlechtsreifer Frauen. Diesen stellten wir 12 Stämme aus Sauerteig, 8 aus Joghurt und 9 Stämme aus verschiedenen Lebensmitteln (Sauermilch, Sauerkraut und Käse) gegenüber. Die Stämme wurden zunächst orientierend morphologisch auf ihre Reinheit und dann eingehend kulturell-biochemisch auf ihre Stoffwechselleistungen überprüft. Zum besseren Vergleich zogen wir noch Arbeiten anderer Autoren hinzu.

Die hierbei gewonnenen Untersuchungsergebnisse erbrachten jedoch, daß keine allgemeingültige Beziehung besteht zwischen dem Vorkommen einzelner Spezies und den einzelnen Fundorten, mit Ausnahme der Bifidusbakterien. Denn die aus den verschiedenen Biotopen isolierten Stämme zeigten nach ihrer Unterteilung in definierte Spezies im großen und ganzen das

gleiche kulturell-biochemische Verhalten. In Übereinstimmung mit Literaturangaben fanden wir, daß in bestimmten Biotopen zwar die eine oder andere Spezies der Laktobazillen überwiegen kann, so daß eine neben der qualitativen durchgeführte quantitative Analyse gewisse Rückschlüsse auf den Fundort zuließe.

Es ist aber genau so gut möglich, bei einer sehr großen Zahl zunächst unbekannter Laktobazillen aus einem Fundort viele, das heißt für den Fundort nicht so typische Spezies zu isolieren bzw. zu definieren.

## VI. Literaturverzeichnis

- 1 ) Anderson, T.G., and Rettger, L.F. : Acidogenic and aciduric bacteria of the mouth and their possible relation to the dental caries. J. Dent. Res. 16 : 489, 1937
- 2 ) Baumgärtel, T. : Klinische Darmbakteriologie. Stuttgart, 3 9, 1954 (Thieme-Verlag)
- 3 ) Baumgartner, E. : Über das Wesen der Zahnkaries mit besonderer Berücksichtigung der Histologie des gesunden und kariösen Zahnschmelzes. Dtsch. Mschr. Zahnheilk. 29 : 321, 1911
- 4 ) Breed, R.S., Murray, E.G.D., and Hitchens, A.P. : Bergey's manual of determinative bacteriology. Baltimore, 6 th ed., 1948 (The Williams and Wilkins Company)
- 5 ) Briggs, M. : The classification of lactobacilli by means of physiological tests. J. Gen. Microbiol. 9 : 234, 1953
- 6 ) Briggs, M., and Briggs, C.A.E. : zit. Davis (10)
- 7 ) Clapper, W.E., and Heatherman, M.E. : Strain differences in oral lactobacilli. J. Bact. 58 : 261, 1949 (and the relation to dental caries)
- 8 ) Davis, G.H.G. : The classification of lactobacillus strains of oral origin. Ph.D. Thesis, University of Birmingham, 1955
- 9 ) Davis, G.H.G., Bisset, K.A., and Hale, C.M.F. : Correlation between morphological characters in the classification of members of the Genus Lactobacillus. J.Gen. Microbiol. 13 : 68, 1955
- 10 ) Davis, G.H.G. : The classification of lactobacilli from the human mouth. J. Gen. Microbiol. 13 : 481, 1955
- 11 ) Davis, J.G. : The use of special litmus milk media for the diagnostic culture of lactic acid bacteria. J. Dairy Res. 6 : 121, 1935
- 12 ) Davis, J.G. : A procedure for the isolation and identification of the lactic acid bacteria. Proc. Soc. Agric. Bacteriologists, Nr. 380, 1936
- 13 ) Davis, J.G. : A dictionary of dairying. London, 378, 1950 (Leonard Hill Ltd.)

- 14 ) Dubos et al. : zit. Rogosa (69)
- 15 ) Enright, J.J., Friesell, H.E., and Trescher, M.S. :  
Studies of the cause and nature of dental  
caries. J. Dent. Res. 12 : 759, 1932
- 16 ) Escherich, Th. : Die Darmbakterien des Säuglings und ihre  
Beziehungen zur Physiologie der Verdauung. Stutt-  
gart, 1886
- 17 ) Fitzgerald, R.J., Jordan, H.V., and Zipkin, J. : Studies  
on rat oral lactobacilli. J. Dent. Res. 32 :  
645, 1953
- 18 ) Frank, D. : Beitrag zur Kenntnis der gasbildenden stabchen-  
förmigen Milchsäurebakterien.  
Phil. Diss. Christian-Albrechts-Universität  
Kiel 1936
- 19 ) Gibson, T., and Abd-el-Malek, Y. : The formation of CO<sub>2</sub> by  
lactic acid bacteria and bacillus licheniformis  
and a cultural method of detecting the process.  
J. Dairy Res. 14 : 35, 1945
- 20 ) Goadby, K.W. : The mycology of the mouth. London, 1903  
(Longmans, Green and Co.)
- 21 ) Hadley, P. : The bacteriology of dental caries. Dent. Cosmos  
66 : 707, 1924
- 22 ) Hadley, F.P., Bunting, R.W., and Delves, E.A. : Recognition  
of Bacillus acidophilus associated with dental  
caries : a preliminary report. J. Amer. Dent.  
Ass. 17 : 2041, 1930
- 23 ) Hadley, P. : Quantitative method for estimating Bacillus  
acidophilus in saliva. J. Dent. Res. 13 :  
415, 1933
- 24 ) Haenel, H. : Aspekte der mikroökologischen Beziehungen der  
Mikroorganismus (Untertitel Mikroorganismen im  
menschlichen und tierischen Darm und in anderen  
Organen des Menschen. Zbl. Bakt, I, Ref. 176 :  
63 u. 72, 1960
- 25 ) Harrison, R.W., Zidek, Z.C., and Hemmens, E.S. : Studies  
on lactobacilli. II. Type-specific immunological  
reactions of oral strains. J. Inf. Dis. 65 :  
255, 1939
- 26 ) Harrison, R.W., and Opal, Z.Z. : Comparative studies on  
lactobacilli isolated from the mouth and in-  
testine. J. Dent. Res. 23 : 1, 1944

- 27 ) Harrison, A.P., Jr., and Hansen, P.A. : The bacterial flora of the cecal feces of healthy turkeys. J. Bact. 59 : 197, 1950
- 28 ) Harrison, A.P., Jr., and Hansen, P.A. : Lactobacilli from turkeys. J. Bact. 60:543, 1950
- 29 ) Hayward, A.C. : Detection of gas production from glucose by heterofermentative lactic acid bacteria. J.Gen. Microbiol. 16 : 9, 1957
- 30 ) Heim                    Zbl. Bakt. I. Orig. 133 : 435, 1934/35
- 31 ) Henneberg, W. und Winnege, E. : Zur Kenntniss der stäbchenförmigen Milchsäurebakterienarten. Zbl. Bakt., II 91 : 102, 1934/5
- 32 ) Herrmann, M., Rozeik, F. und Lammers, T. : Über die Beziehung zwischen Bakterien und Kariesentwicklung. D.Z.Z. 15 : 1376, 1960
- 33 ) Hodges, E.A., Coolidge, T.B., and Harrison, R.W. : Further observations on metabolic changes in oral lactobacilli. J. Inf. Dis. 88 : 237, 1951
- 34 ) Howe, P.R., and Hatch, R.E. : A study of the microorganisms of dental caries. Dent. Cosmos 59 : 961, 1917
- 35 ) Hunter, Jr. C.A., Long, K.R., and Schumacher, R.R. : A study of Döderlein's vaginal bacillus. Ann. N.Y. Acad. Sci. 83/2 : 217, 1959
- 36 ) Jay, P., Phillip, P.H., and Voorhees, R.S. : Bacillus acidophilus and dental caries. Dent. Cosmos 69 : 977, 1927
- 37 ) Jay, P., Crowley, J., and Bunting, R.W. : Preliminary studies on the immunology of dental caries. J. Amer. Dent. Ass. 19 : 265, 1932
- 38 ) Jensen, R.G., Smith, K.L., Edmondson, J.E., and Merilan, C.P. : The characteristics of some rumen lactobacilli. J. Bact. 72 : 253, 1956
- 39 ) Jensen, R.G., and Edmondson, J.E. : The characterisation of some lactobacilli found in milk. J. Dairy Sci. 40 : 180, 1957
- 40 ) Jordan, H.V., and Fitzgerald, R.J. : Types of lactobacilli from the oral cavity of the white rat. J.Dent. Res. 34 : 699, 1955

- 41 ) Kantorowicz, A. : Bakteriologische und biologische Studien über die Caries des Dentins. Dtsch. Zahnheilk. in Vorträgen H. 21, 3, 1911
- 42 ) Kligler, I.J. : A biochemical study and differentiation of oral bacteria with special reference to dental caries. J. Allied Dent. Soc. 10 : 141, 1915
- 43 ) Kulp, W.L., and Rettger, L.F. : Comparative study of lactobacillus acidophilus and lactobacillus bulgaricus J. Bact. 9 : 357, 1924
- 44 ) Kundrat, W. : Beitrag zur Kenntnis der Milchsäurebakterien. I. Mitteilung. Die Differenzierung der stäbchenförmigen Milchsäurebakterien ( Genus Lactobacillus Beijerinck). Zbl. Bakt. II. 111 : 249, 1958
- 45 ) Lammers, T. und Kreusser, K. : Bakteriologische Probleme der Mundhöhle. Zahnärztl. Welt 6 : 383, 1951
- 46 ) Lammers, T. : Bakteriologische Studien über die Mundflora und Mundhygiene. D.Z.M.K. 18 : 378 u. 441, 1953
- 47 ) Lammers, T. und Hafer, H. : Biologie der Zahnkaries. Heidelberg, 1956 ( Dr. Alfred Hüthig-Verlag )
- 48 ) Lehmann zit. Kantorowicz (41)
- 49 ) Lerche, M. und Reuter, G. : Beitrag zur Methodik der Isolierung und Differenzierung von aerob wachsenden "Laktobazillen" (Genus Lactobacillus Beijerinck). Zbl. Bakt., I, 179 : 354, 1960
- 50 ) Lörz, H.-J. : Über die Keimbesiedlung der Mundhöhle bei der Kariesentwicklung. (Tierexperimentelle Studie). Med. Diss, Mainz, 1960
- 51 ) Mc Donald, I.J. : Utilisation of sodium caseinate by some homofermentative lactobacilli. Canad. J. Microbiol. 1 : 653, 1955
- 52 ) Mc Intosh, J., James, W.W., and Lazarus-Barlow, P. : An investigation into the etiology of dental caries. - the nature of the destructive agent and the production of artificial caries. Brit. J. Exper. Pathol. 3 : 138, 1922
- 53 ) Morishita, T. : Studies on dental caries, with special reference to aciduric organisms associated with this process. I. Isolation and description of organisms. J. Bact. 18 : 181, 1929

- 54 ) Moro, E. : Über den *Bacillus acidophilus* n. spec.. Ein Beitrag zur Kenntnis der normalen Darmbakterien des Säuglings. *Jb. Kinderheilk.* 52 : 38, 1900
- 55 ) Moro, E. : Über die nach Gram färbbaren Bacillen des Säuglingsstuhles. *Wien. klin. Wschr.* 13 : 114, 1900
- 56 ) Orla-Jensen, S. : The lactic acid bacteria. Copenhagen, 1919 (Andr. Fred. Host. and Son)
- 57 ) Orla-Jensen, S. Otte, N.C. und Snog-Kjaer, A. : Vitaminbedarf der Milchsäurebakterien  
*Zbl. Bakt.* II, 94 : 434, 460 1936
- 58 ) Orla-Jensen, S. Orla-Jensen, A., O., und Winther, O. : *Bacterium bifidum* u. *Thermobact. intestinale*.  
*Zbl. Bakt.* II, 93 : 321, 1935/36
- 59 ) Orla-Jensen, S. : The lactic acid bacteria. Die echten Milchsäurebakterien. Ergänzungsband. D. Kgl. Danske Videnskabernes Selskab, *Biolog. Skrifter*, Bind. II, Nr.3, 1943 København (i. Kom. Munksgaard)
- 60 ) Orland, F.J. : The differentiation of lactobacilli : A review. *Internat. Dent. J.* 4 : 123, 1953
- 61 ) Orland, F.J., Blayney, J.R., and Harrison, R.W.; Reyniers, J.A., Trexler, P.C., Wagner, M., Gordon, H.A., and Luckey, T.D. : Use of the germfree animal technic in the study of experimental dental caries. *J. Dent. Res.* 33 : 147, 1954
- 62 ) Pederson, C.S. : A study of the species *Lactobacillus plantarum* (Orla-Jensen, Bergey et al.) *J. Bact.* 31 : 217, 1936
- 63 ) Pederson, C.S. : The gas-producing species of the genus *Lactobacillus*. *J. Bact.* 35 : 95, 1938
- 64 ) Pederson, C.S. : The relationship between *Lactobacillus acidophilus* (Moro), Holland, and *Lactobacillus casei* (Orla-Jensen), Holland. *J. Bact.* 53 : 407, 1947
- 65 ) Pederson, C.S. : In " A symposium on the lactic acid bacteria" *Bact. Rev.* 16 : 227, 1952
- 66 ) Petuely, F. : Ein einfacher vollsynthetischer Nährboden für den *Lactobacillus bifidus*. *Zbl. Bakt.* I. Orig., 160 : 95, 1955

- 67 ) Poch, H. u. Müller, H. : Erfahrungen und Ergebnisse bei der Züchtung von Laktobazillen in thioglycollathaltigen Substraten. Zbl. Bakt. I. Orig. 185 : 53, 1962
- 68 ) Rogosa, M., Tittsler, R.P., and Geib, D.S. : Correlation of vitamin requirements and cultural and biochemical characteristics of the Genus *Lactobacillus*. J. Bact. 54 : 13, 1947
- 69 ) Rogosa, M., Wiseman, R.F., Mitchell, J.A., Disraely, M.N., and Beaman, A.J. : Species differentiation of oral lactobacilli from man including descriptions of *Lactobacillus salivarius* nov. spec. and *Lactobacillus cellobiosus* nov. spec.. J. Bact. 65 : 681, 1953
- 70 ) Rogosa, M., and Sharpe, M.E. : An approach to the classification of the lactobacilli. J.appl. Bact. 22 : 329, 1959
- 71 ) Rogosa, M., and Sharpe, M.E. : Species differentiation of human vaginal lactobacilli. J.gen.Microbiol. 23 : 197, 1960
- 72 ) Rogosa, M., Franklin, J.G., and Perry, K.D. : Correlation of the vitamin requirements with cultural and biochemical characters of *Lactobacillus* spp. J.gen.Microbiol. 25 : 473, 1961
- 73 ) Rosen, S., Ragheb, H.S., Hunt, H.R., and Hoppert, C.A. : A comparative study of oral lactobacilli isolated on two different media from the Hunt-Hoppert rats. J.Dent. Res. 35 : 291, 1956
- 74 ) Rozeik, F. : Über den Antagonismus zwischen Säurebildnern und Fäulnisbakterien im Tierexperiment DZZ 13 : 76/, 1958
- 75 ) Schieblich, M. und Seidel, H. : Beitrag zur kulturellen Differenzierung der Laktobazillen. Zbl. Bakt. I, 180 : 192-98, 1960
- 76 ) Schlirf, K. : Bakteriologische Untersuchungen über die Zahnkaries, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Mundbakterien. Zbl. Bakt. I. 99 : 129, 1926
- 77 ) Seidel, H. : Systematik und Differenzierung der Arten der Gattung *Lactobacillus*. Zbl. Bakt. I 180 : 57-74, 1960
- 78 ) Sharpe, E. : A serological classification of lactobacilli. J. Gen. Microbiol. 12 : 107, 1956

- 79 ) Spicher, G. : Die Mikroflora des Sauerteigs. 1. Mitteilung : Untersuchungen über die Art der in Sauerteigen anzutreffenden stäbchenförmigen Milchsäurebakterien (Genus *Lactobacillus* Beijerinck). Zbl. Bakt. II, 113 : 80, 1959
- 80 ) Sullivan, H.R., Still, J.L., and Goldsworthy, N.E. : Acid production as a basis for classifying lactobacilli from carious teeth, J. Dent. Res. 18 : 513, 1939
- 81 ) Tilden, E.B., and Svec, M. : Further studies of a differential culture technique for estimations of acidogenic bacteria in saliva. II. Species of lactobacilli isolated from saliva and their distribution in a group of children. J. Dent. Res. 31 : 831, 1952
- 82 ) Tissier, H. : Recherches sur la flore du intestinale normale et pathologique du nourisson. Paris, 1900
- 83 ) Tittsler, R.P., Geib, D.S., and Rogosa, M. : Taxonomy of the Genus *Lactobacillus* with special reference to correlations of differential characteristics. J. Bact. 54 : 12, 1947
- 84 ) Todoroff, A. : Methoden und Technik zur Untersuchung der echten Milchsäurebakterien. Nürnberg, 1947, (Verl. Hans Carl)
- 85 ) Underwood, A.S., and Milles, W.T. : An Investigation into the effects of organisms upon the teeth and alveolar portions of the jaws. Trans. Internat. Med. Congr., 7 th session 2 : 523, 1881
- 86 ) Weaver, R.H. : Fermentation studies on *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. J. Inf. Dis. 51 : 273, 1932
- 87 ) Wheeler, D.M. : The characteristics of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. J. Gen. Microbiol. 12 : 123, 1955
- 88 ) Wheeler, D.M. : The characteristics of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, and *Lactobacillus casei*. J. Gen. Microbiol. 12 : 133, 1955
- 89 ) Winkle, S. : Mikrobiologische und serologische Diagnostik. Stuttgart, 2.Auflage, S. 91, 1955 (Fischer Verlag)

## VII Anhang

Im Anhang bringen wir nochmals in aller Ausführlichkeit die Angaben der einzelnen Autoren zu den einzelnen Species tabellarisch geordnet. Es wäre eine Sisypchos-Arbeit, dies im Text besprechen zu wollen. Die Unterschiede in den Ergebnissen werden von uns einmal durch die Variationsbreite, die jeder Species innewohnt, vor allem, da sie ja auch aus den verschiedensten Herkunftten stammen, zum anderen durch die unterschiedliche Methodik bezüglich der Nährböden, Bebrütungsart usw. der Autoren erklärt. Die Tabelle I stellt eine Zusammenfassung der nun folgenden Tabellen VII - IX dar.

Aesculin  
Acetoin  
Arginin

[illegible]







Tabelle 8 zeigt eine Gegenüberstellung der von den einzelnen Autoren beschriebenen Charakteristika von *L. plantarum*, *leichmannii* u. *brevis*

|                       |                  | Hippurathydrolyse |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|-----------------------|------------------|-------------------|---------|---------|-----------------|-----------------------------|----------|----------|-----------|--------------------------------|------------|-----|
|                       |                  | Aesculin          | Acetoin | Arginin | Gas aus Glucose | 2% ige Galleverträglichkeit | 3% ige " | 4% ige " | 10% ige " | 0,3% ige Phenolverträglichkeit | 0,4% ige " |     |
| <i>L. plantarum</i>   | ORLA-JENSEN      |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            | +   |
|                       | BERGEY           |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            | +   |
|                       | ROGOSA u.a.      | +                 |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            | +   |
|                       | TILDEN u.SVEC    |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | WHEATER          | -                 | +       |         |                 |                             |          | +        |           |                                |            |     |
|                       | DAVIS            | +                 | +       | +       |                 |                             |          |          | +         | +                              | +          |     |
|                       | JENSEN u.a.      | +                 |         |         |                 | +                           | +        | +        |           |                                |            |     |
|                       | KUNDRAT          | +                 |         |         |                 | +                           | +        | +        |           |                                |            |     |
|                       | SPICHER          | +                 | -       | -       |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | LERCHE u.REUTER  | +                 |         |         |                 |                             |          |          |           | (+)                            |            | (+) |
|                       | ROGOSA u.FRANKL. |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | EIGENE ERGEBN.   | +                 | +       | -       |                 |                             |          |          |           |                                |            | (+) |
| <i>L. leichmannii</i> | BERGEY           |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | WINKLE           |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | ROGOSA u.a.      |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | KUNDRAT          | +                 |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | SPICHER          | +                 | -       | -       |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | LERCHE u.REUTER  | +                 |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | EIGENE ERGEBN.   | +                 | -       | -       |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
| <i>L. brevis</i>      | ORLA-JENSEN      |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            | +   |
|                       | BERGEY           |                   |         |         | +               |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | JENSEN u.a.      | -                 | +       | +       | -               |                             |          |          |           | +                              | +          |     |
|                       | ROGOSA u.a.      | +                 | +       | +       |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | TILDEN u.SVEC    |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | DAVIS            | +                 | -       | +       | +               |                             |          |          |           | +                              | +          |     |
|                       | SPICHER          | +                 | -       | +       |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | KUNDRAT          | -                 |         |         | +               | +                           | +        | +        |           |                                |            |     |
|                       | LERCHE u.REUTER  | -                 |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | ROGOSA u.FRANKL. |                   |         |         |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |
|                       | EIGENE ERGEBN.   | +                 | -       | +       |                 |                             |          |          |           |                                |            |     |







An dieser Stelle ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof.Dr.T. Lammers für die freundliche Überlassung des interessanten Themas und die Übernahme des Referates herzlich zu danken.

Herrn Prof.Dr.H. Kliewe danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferates. Zu Dank verpflichtet bin ich auch Herrn Prof.Dr.K. Thomsen für die Abstriche aus der Vagina geschlechtsreifer Frauen, Herrn Privatdozent Dr.F. Rozeik für die Überlassung von Untersuchungsmaterial aus dem cavum oris weißer Ratten und Herrn Dr.G. Spicher für die Gewährung von Kontrollstämmen aus Sauerteig.

Gedankt sei auch den ungenannten Helfern, die bei der Fertigstellung der Arbeit mitgewirkt haben.

## Lebenslauf

Am 15. April 1936 wurde ich, Hans-Jürgen Lörz, als zweitältester Sohn des Arztes und Zahnarztes Dr. med. Kurt Lörz und seiner Ehefrau Alice, geb. Krauss, in Stuttgart geboren.

Ab Herbst 1942 besuchte ich die Volksschule in Stuttgart. Nach Kriegsende ging ich dann zweieinhalb Jahre in die Walddorfschule, von wo ich in die dritte Klasse des humanistischen Gymnasiums in Stuttgart überwechselte. Dort legte ich am 26.2.1955 die Reifeprüfung erfolgreich ab.

Im Sommersemester 1955 begann ich das Studium der Medizin und Zahnheilkunde in Tübingen, wo ich mit Ausnahme des 3. Semesters in Kiel mein vorklinisches Studium fortsetzte. Am 31.10.1957 bestand ich in Tübingen das Physikum für Zahnheilkunde und am 4.3.1958 das Physikum der Medizin.

Die klinischen Fächer studierte ich in Tübingen, Kiel (je 1) und Mainz (7). In Mainz legte ich am 15.7.1960 das zahnärztliche Staatsexamen ab und promovierte am 20.7.1960 zum Dr.med.dent.

Am 30.7.1962 schloß ich das Medizinstudium mit dem medizinischen Staatsexamen in Mainz ab und promovierte zum Dr.med. am 1.7.1963. Seit 15.9.1962 bin ich Assistenzzahnarzt an der Kieferklinik des Katharinenhospitals in Stuttgart.

